

Löytyykö uusia työkaluja sisäilmaongelmaisten työtilojen ja niiden käyttäjien tutkimukseen?

Janne Atosuo^{1,2}, Outi Karhuvaara^{1,2}, Marja Päivinen², Liisa Vilén², Eetu Suominen², Jari Nuutila¹, Tuula Putus²

¹Turun yliopisto Kliininen tutkimusyksikkö TROSSI,
Luonnontieteiden ja tekniikan tiedekunnan Biokemian laitoksen Immunokemian laboratorio

²Turun yliopisto Kliininen tutkimusyksikkö TROSSI,
Lääketieteellisen tiedekunnan Kliinisen laitoksen työterveyshuollon ja ympäristölääketieteen oppiaine

Loppuraportti (hanke 180090)



Työsuojelurahasto
Arbetarskyddsfonden
The Finnish Work Environment Fund

Sisällysluettelo

1. Tutkimusorganisaation kuvaus	5
Tutkimusryhmä	5
Yhteistyötahot	5
2. TSR hankkeen 180090 tutkimukselliset kontekstit	6
Hankkeen tausta	6
Indikaatioita	6
Tavoitteet	10
Hankkeen uutuusarvo	10
3. Tutkimuksen teoreettinen ja käsitteellinen perusta	12
Tutkimuskysymyksiä:	12
4. Tutkimusmateriaali, analyysimenetelmät ja tulokset	12
Materiaalit	12
Kliinisessä laboratoriotutkimuksessa käytetyt tutkimusmateriaalit	13
Menetelmät ja tulokset	15
Tilastomenetelmät	15
Oirekyselyt:	16
Keuhkofunktiotestit:	17
Immunologiset vastemittaukset	18
1. Neutrofiilien seerumivaste:	18
2. Neutrofiilien in vivo-testi, autologinen systeemi (PIKATESTI-aiho):	21
3. Valkosolujen pintareseptoreiden fenotyypitys virtaussytometrillä	23
4. Seeruminäytteiden spesifiset merkkiaineet:	25
Itiöspesifiset vasta-aineet (IgM, IgG, IgG1, IgG3, IgG2, IgA)	25
Kosteusvauriomikrobialtistuksen yhteys kiertävien immuunikompleksien (iC3b, C3dg ja C3d - fraktiot) muodostumiseen	27
Altistumisen vaikutus sytokiinitasoihin (IL-1 β , IL-4, IL-6, TNF- α)	29
Altistumisen vaikutus FGF-21 tasoon	30
Altistumisen vaikutus seerumin komplementtisysteemin aktiivisuuteen	30
<i>E. coli</i> -lux- testi:	32
Neutrofiilit ihmssolukoettimena	34
Mikrobianalyysit	34
5. Pohdinta ja johtopäätökset	35
Pohdintoja tutkimuksista ja menetelmistä	35
Oireilu	35

Keuhkofunktiot	38
Immunologiset vasteet	39
Toksisuusmittaukset	45
Hankkeen johtopäätelmät ja vastaukset tutkimuskysymyksiin	46
6. Julkaisutoiminta	47
7. Viitteet	48

1. Tutkimusorganisaation kuvaus

Turun yliopiston ympäristö lääketieteellinen klininen tutkimusyksikkö TROSSI on perustettu Turun yliopiston lääketieteellisen tiedekunnan klinisen laitoksen, työterveyshuollon ja ympäristö lääketieteen oppiaineen sekä luonnontieteiden ja tekniikan tiedekunnan biokemian laitoksen Immunokemian laboratorion yhteistyönä vuonna 2016.

TROSSI on ollut mukana toteuttamassa suurta sisäilmaongelmien interventiohanketta, SataKunta-hanketta, johon kunnat ja kaupungit voivat vapaaehtoisuuden pohjalta osallistua. Työsuojelurahaston (TSR) hankkeen 180090 näytemateriaali on kerätty pääasiallisesti Satakunta-hankkeen tutkimuskohteista ja siihen osallistuvien kuntien työntekijöiltä (Kuva 1).

Tutkimuksella on Varsinais-Suomen sairaanhoitopiirin kuntayhtymän eettisen toimikunnan antama puoltava lausunto (Dnro: 59 /1801/2019).

Tutkimusryhmä

Prof. Tuula Putus, professori, työterveyshuollon erikoislääkäri, Kliininen laitos, työterveyshuollon ja ympäristö lääketieteen oppiaine, Turun yliopisto: Kliinisen tutkimusyksikkö TROSSI:n johtaja.

Dos. Jari Nuutila, biokemian yliopisto-opettaja, tutkija, immunologi, Biokemian laitos, Turun yliopisto: Väitöskirjatyöntekijöiden ohjaus, immunokemiallisen analytiikan vastuhenkilö

FT Janne Atosuo, erikoistutkija, Kliininen tutkimusyksikkö TROSSI, Biokemian laitos. immunokemiallinen analytiikka, immunologia, toksikologia ja immunotoksikologia, väitöskirjatyöntekijöiden ohjaus.

TtM Liisa Vilén väitöskirjatyöntekijä, klininen laitos, työterveyshuollon ja ympäristö lääketieteen oppiaine, Turun yliopisto, väitöskirjatyön ohjaaja prof. Tuula Putus, dos. Jussi Kantele.

FM Marja Päivinen, väitöskirjatyöntekijä urheilufysiologi, keuhkojen toimintatutkimukset.. Helsingin yliopisto, pääohjaaja prof. Heikki Tikkanen.

FM Outi Karhuvaara, väitöskirjatyöntekijä Biokemian laitos, ohjaajat Jari Nuutila, FT Janne Atosuo.

FM, lääk. yo Eetu Suominen, väitöskirjatyöntekijä, Biokemian laitos, Turun yliopisto: Biokemiallinen tutkimustyö, epidemiologinen tutkimus, ohjaajat Jari Nuutila, FT Janne Atosuo.

LK Mika A Kantele, väitöskirjatyöntekijä lääketieteen opiskelija, Turun yliopisto, lääketiede. Väitöskirjatyön ohjaajat prof. Markku Voutilainen ja prof. Tuula Putus.

DI Olavi Holmijoki, Tekninen suunnittelija, Kliininen tutkimusyksikkö TROSSI, Rakentamisen, terveysriskien talousvaikutusten, talouden ja tilastojen asiantuntija.

Yhteistyötahot

Turun yliopiston (TY) ja osallistuvien organisaatioiden välillä on kirjallinen yhteistyösopimus (kunnat ja kaupungit, TEHY, SuPer-liitto, OAJ, PAM, SPAL, SPJL ja MELA). Tutkimus on toteutettu Turun yliopisto biokemian laitoksen immunokemian laboratoriossa. Tutkimuksen alihankkijoina toimivat TY:n aerobiologian yksikkö ja Työterveyslaitoksen Kuopion aluetoimipiste. Yhteistyökuntia SataKunta-hankkeen ja muun pitkäjän jatkuneen tutkimusyhteistyön tiimoilta ovat mm. Kotka, Loviisa, Siuntio, Lohja, Vesilahti, Nokia ja Tuusula sekä Vantaa.

Porin kaupunki ei osallistunut tutkimushankkeeseen, vaikka se mainitaan tutkimussuunnitelmassa.

Turun yliopisto on hankkinut TROSSI-yksikölle laitekantaa n. 70 000 euron arvosta. Nämä hankinnat eivät ole mukana hankkeen kirjanpidossa, mutta mahdollistavat näytteiden keräyksen laajasti ympäri Suomen, sekä keuhkofunktioiden monipuolisen mittauksen. Turun yliopiston biokemian laitos tarjoaa laboratoriotilat ja laitteet klinisen yksikön tutkimustoimintaan. IndoorAid Oy:n asiakkaista osa on sitoutunut mukaan hankkeeseen. Lisäksi monet kunnat ja kaupungit ovat mukana, vaikkei virallista sitoutumisilmoitusta ole määräpäivään mennessä saatu. Hankesuunnitelman kirjoittamisen jälkeen mukaan on tullut myös uusia yhteistyökuntia, kuten Miehikkälä ja Virolahti.

2. TSR hankkeen 180090 tutkimukselliset kontekstit

Hankkeen tausta

Sisäilmaongelmat ovat julkisissa ja varsinkin kuntasektorin rakennuksissa erittäin yleisiä. Jopa viidennes toimistorakennuksista ja kolmannes koulurakennuksista on sisäilmaongelmaisia (**Rimpelä ym. 2007, 2008, 2008, Väyrynen ym. 2009, Reijula ym. 2012**). Päiväkotirakennuksista arvioiden mukaan viidennes on ongelmarakennuksia, ja näistä yli puolet on kosteusvaurioituneita (**Holmijoki 2013**).

Työterveyslaitoksen (TTL) mukaan yli 800 000 suomalaista altistuu päivittäin sisäilman epäpuhtauksille, mikä aiheuttaa oireilua, infektiosairauksia, hoidon tarvetta ja sairauspoissaoloja. Pysyvä työkyvyttömyys ja rakennusten korjausvelka ja osassa tapauksissa rakennusten purkutarve aiheuttavat miljardiluokan kustannukset (**Reijula ym. 2012, Seppänen ym. 1998**). Ongelmien tieteellinen tutkimus ja toimivien ratkaisujen löytäminen on ensiarvoisen tärkeää. Lähtökohtana tutkimuksessa on aiemmin julkaistu tutkimustieto sisäilman epäpuhtauksien, mm. kosteusvauriomikrobien ja niiden tuottamien aineenvaihduntatuotteiden, sekä suoraan rakennusmateriaaleista emittoituvien hiukkasten ja yhdisteiden immunologisista ja toksisista vasteista eri ryhmissä (ärsytysoireet, yleisoireet, infektiot ja krooniset sairaudet, kuten astma).

Indikaatioita

Altistumisen sisäilman ja työympäristön mikrobeille on todettu nostavan seerumin IgG-tasoa sekä aikuisilla (**Erkinjuntti-Pekkanen ym. 1999, Patovirta vk 2005, Atosuo ym. 2019**) että lapsilla (**Korppi ym. 2003, Hyvärinen ym. 2003**). Lisäksi on todettu kiertävien immuunikompleksien tason nousevan merkitsevästi (**Luosujärvi ym 2003 TSR hanke**). Myös ulkoilman saasteet nostavat kiertävien immuunikompleksien tasoa merkitsevästi (**Husman vk 1995**) ja näiden on katsottu ennakoivan eräiden kroonisten sairauksien, kuten esim. nivelreuman ja eräiden keuhkosairauksien riskiä. Monissa reumasairauksissa todetaan myös keuhkokudoksen vaurioita (esim. SLE ja amyloidoosi). Toisaalta kosteusvauriorakennuksissa ja maataloustyössä esiintyy sekä alveoliitin että ODS:n (organic dust toxic syndrome) oireita. Sekä maataloustyössä, puunjalostusteollisuudessa että kosteusvauriorakennusten korjauksissa voi purkutyön aikana esiintyä niin korkeita mikrobipitoisuuksia, että klininen alveoliitti ja ODS ovat mahdollisia (**Rautiala vk 2004, vk, Haatainen ym. 1994**). Epidemiologisissa tutkimuksissa on voitu osoittaa, että tiettyjen oireiden ja sairauksien riski on kohonnut rakennuksissa, joissa on merkittäviä indikaattorimikrobien kasvustoja. Tyypillisiä oireita ovat sekä aikuisilla että lapsilla ihon, silmien ja hengitysteiden ärsytysoireet ja astmaattiset oireet

(**Koskinen vk 1999**) sekä hengitystieinfektiot (**Pirhonen ym. 1996**). Kroonisten hengitystiesairauksien, kuten astman riski on kohonnut rakennuksissa, joissa on kosteusvaurio ja indikaattorimikrobien kasvua. Astman lisääntynyt riski on osoitettu sekä lapsilla (**Taskinen vk 2001, Pekkanen ym. 2007, Guihong vk 2013**) että aikuisilla (**Patovirta vk 2005, Jaakkola ym 2002, Karvala vk 2012**). Aikuisilla oireilevilla työntekijöillä on noin nelinkertainen astmaan sairastumisen riski, jos altistumisen annetaan jatkua (**Karvala vk 2012**).

Kosteusvauriomikrobien vaikutukset nisäkässoluihin on osoitettu kokeellisissa tutkimuksissa, joiden avulla on osoitettu suuria eroja inflammatiovasteissa (**Roponen ym. 2013**) sekä selvä yhteisvaikutus eli synergismi eri mikrobien vaikuttaessa soluun samanaikaisesti (**Murtoniemi vk 2003, Jussila vk 2003, Roponen vk 2014, Huttunen ym. 2004**).

Erityisen mielenkiintoinen on havainto kosteusvauriohomeiden ja sädesienten synergistisistä vaikutuksista, joka on osoitettu useamman, toisistaan riippumattoman tutkijaryhmän toimesta (**Murtoniemi vk 2003, Jussila vk 2003, Markkanen vk 2008**). Mikrobien yhteisvaikutusten lisäksi myös kasvualusta vaikuttaa mikrobien toksisuuden potentiaaliin (**Murtoniemi vk 2003**). Kosteusvauriota indikoivista mikrobeista vallitsee kansainvälinen konsensus (**Samson ym 1994**) ja asiasta on Suomessa annettu asetustasoinen viranomaisohje (**Valviran Asumisterveysasetus**). Kosteusvaurion yhteydessä kasvavat mikrobit ovat melko samanlaisia eri ilmastoalueilla eri puolilla maailmaa. Suomalaisten rakennusten tyypillisiä mikrobisukuja ovat kartoittaneet sekä Terveyden ja hyvinvoinnin laitoksen (THL) tutkijat (**Nevalainen vk 1989, Hyvärinen vk 2002, Toivola vk 2004**) että Työterveyslaitoksen tutkijat (**Reiman ym 2004, Haatainen ym 1994**). Puurakenteiden homeita ja lahottajia on kartoittanut erityisesti VTT (**Viitanen vk 1994**) ja maatalousympäristön homeita TTL (**Kotimaa ym 1991, Katila ym. 1979**). Näiden toksiinien tuoton potentiaalia on tutkittu laajasti monissa kansainvälisissä tutkimuksissa (**Ammann 2005**) sekä suomalaisissa tutkimuksissa (**Andersson ym. 2010, Kankkunen ym. 2009, Nikulin ym. 1996**). Sosiaali- ja terveysministeriön Asumisterveysohjeessa ja -oppaassa (**Asumisterveysopas, Asumisterveysasetuksen soveltamisohje**) on luettelo Suomen olosuhteissa tärkeimmistä kosteusvauriomikrobeista.

Kosteusvauriomikrobien terveyshaittoja on tutkittu sekä asunnoissa, kouluissa, päiväkodeissa että työpaikoilla. Homealtistuksen terveyshaitat on alun perin osoitettu maataloustyössä ja sahoilla (**Rautalahti vk 1986, Erkinjuntti-Pekkanen ym. 1997, 1999, Kokkarinen ym. 1994, Douwes ym. 2006**), rakennusten korjaustyössä (**Rautiala vk 2004**), laitoskeittiöissä (**Lignell vk 2008**), rakennussiivoojilla (**Kivekäs ym. 1984**) sekä myöhemmin päiväkotien työntekijöillä (**Ruotsalainen vk 1995**), koulujen opettajilla (**Patovirta vk 2005, Purokivi vk 2002**) ja lisäksi sairaalojen työntekijöillä (**Hellgren ym 2011**) sekä toimistotyötä tekeville (**Jaakkola 1986, Salonen ym. 2009, Sundman-Diebert ym. 2002**).

Kosteusvauriorakennuksissa esiintyy sekä mikrobiologisten haittojen lisäksi myös kemiallisia altisteita. Tyypillisiä sisäympäristössä esiintyviä haittoja ovat alkalisen kostean betonin päälle asennettujen muovimattojen päästöt (esim. 2-etyyli-1-heksanoli, TXIB ja 1-butanoli) sekä betonin ja tasoitteiden lisäaineena käytetty ammoniakki ja lastulevyistä ja kalusteista haihtuva formaldehydi (**Jurvelin vk 2003**). Näiden altisteiden ja oireiden väliset yhteydet sekä kemiallisten altisteiden ja mikrobien yhteisvaikutukset tunnetaan vielä puutteellisesti (**Korpi vk 2001**). Kun rakennuksissa kasvaa potentiaalisesti toksiineja tuottavia mikrobeja, vain osassa kohteista voidaan osoittaa toksisuutta tai toksiseen vasteeseen viittaavaa oireilua. Toistaiseksi tunnetaan huonosti olosuhteet ja syyt, joiden vuoksi toksisuustuotto kasvustossa alkaa. Hypoteeseina on esitetty kasvualustan vaikutusta (**Hyvärinen vk 2002, Murtoniemi vk 2003**),



Turun yliopisto
University of Turku

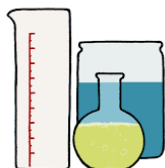
Kliininen tutkimusyksikkö TROSSI

Sisäilmaongelmien aiheuttamien oireiden ja sairauksien tutkimus

Janne Atosuo, Outi Karhuvaara, Jari Nuutila, Marja Päivinen, Eetu Suominen, Liisa Vilén, Tuula Putus

Kliininen laboratorio, Turku

Liikkuva laboratorio



KEUHKOFUNKTIOMITTAUKSET

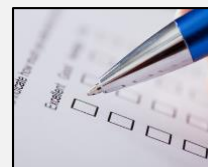
(Päivinen et al.)

1. Uloshengityksen typpioksidimittaus
2. Spirometria
3. Diffuusiokapasiteettimittaus

OIREKYSELYT

(laaja referenssimateriaali)

8000 opettajaa
15 000 hoitohenkilökuntaa
2500 maanviljelijää
650 poliisia
(Putus et al.)



SEERUMITESTIT

(Atosuo et al. & Vilén et al.)

1. Itiöspesifinen ELISA ja muut markerit
(IgA, IgA1-2 IgG, IgG1-3, IgE C3d- ja C1q- kompleksit IL-4, IL-6, TNF- α , IFN γ)
2. Komplementtisysteemin aktiivisuus



VERINÄYTE



MATERIAALINÄYTE

YLÄPÖLYNÄYTE

MIKROBIT

1. Määrät
2. Lajit



LEUKOSYYTTITESTIT

1. Virtausytometrianalyysi
Leukosyyttien fenotyypitys (BI-index)
reseptoriekspression perusteella mm.
(CD35, CD64, IL-10R, TNF α R)
(Nuutila et al.)
2. Altistumistestit
Neutrofiilien kemiluminesenssi (CL)
(Vilén et al.)

TOKSISUUSMITTAUS

1. Bakterikoetin *E. coli*-lux
[bioluminesenssi (BL)]
(Atosuo et al.)
2. kemiluminesenssi (CL)
(mm. mitokondriotoksiinit)
(Vilén et al. & Atosuo et al.)



Työsuojelurahasto
Arbetskyddsfonden
The Finnish Work Environment Fund

Kuva 1: TROSSI:n toiminnasta Sisäilmastoseminaari 2019 poster (Atosuo et al. 2019 A)

kemikaalien ja biosidien vaikutusta ja myös käytettyjen siivousaineiden ja –menetelmien vaikutusta (**Louhelainen ym. 2016**). Nykyisin altistumisen karakterisointi perustuu pääasiassa mikrobiologiseen näytteenottoon viljelymenetelmillä eli elinkykyisten itiöiden viljelyyn ja tunnistukseen ja lisäksi on yritetty sekä suoramikroskopointia, PCR-tekniikoita (**Rintala vk 2003**) ja homeiden pintaentsyymien semikvantitatiivista osoittamista erilaisilla pikatesteillä (esim. MykoMeter). Toksisuuden ja haitta-aineiden muiden komponenttien osoittamiseen tarvitaan laajempaa altistumisen arviointia terveysriskin luotettavaa mittaamista varten. On selvää, että käytännön tilanteissa on aina kyse seka-altistumisesta, jolloin yksittäisen haitta-aineen vaikutuksen erottaminen on paitsi mahdotonta, usein myös tarpeetonta.

Osa kosteusvauriomikrobeista on potentiaalisesti toksiineja tuottavia. Sisäilman toksiinien ja terveysvaikutusten arviointia on yritetty monella tavalla. Toksisuuden mittaaminen on mahdollista myös laboratoriossa, mutta monet mikrobit menettävät toksisuutensa laboratorioolosuhteissa. Toisaalta kohteessa toksiineja tuottamattomat mikrobit voivat muuttua toksisiksi pitkän viljelyn aikana. THL:n tekemän tutkimuksen mukaan (**Täubel ym. 2011**) kosteusvaurioituneessa rakennuksessa esiintyy yleensä rinnakkain sekä bakteeri- että mykotoksiineja ja nämä ovat mitattavissa myös laskeutuneesta pölystä. Tämä indikoi nimenomaan hengitysteiden kautta tapahtuvaa altistusta (**Täubel ym. 2011**). Luotettavien, edullisten ja toistettavien testimenetelmien ja näytteenkeräysmenetelmien löytäminen käytännön kenttätöitä varten on osoittautunut haastavaksi. Biologisten vaikutusten mittaaminen on olennaista, koska kemiallinen analytiikka ei paljasta kokonaisvaikutusta eikä viljelyyn perustuva mikrobien tunnistus osoita kasvuston toksisuutta (**Jestoi vk 2005**). On lisäksi otettava huomioon, että viljelyyn perustuvat menetelmät osoittavat vain elinkykyiset itiöt. Tutkimuksissa on osoitettu, että ilmasta saadaan viljellyksi vain 1-10 % kaikista mikrosienistä. Tämän vuoksi toksisuuden mittauksessa on käytetty sekä *E. coli*-lux-testiä, siittöön liikkuvuustestiä, kissan keuhkosoluja, ihmisen makrofagisoluja sekä *Caenorhabditis elegans*-sukkulamatoa (**Markkanen vk 2008, Kankkunen ym 2009, Murtoniemi vk 2003**).

Työntekijöiden riskinarviointiin tarvitaan tieto sekä mikrobien lajistosta että ilmassa leijuneen pölyn toksisuudesta. Jos pinnoille laskeutuneen pölyn toksisuudessa on mukana komponentteja materiaali-päästöjen tai kemikaalien toksisuudesta, se ei haittaa olennaisesti rakennuksen käyttäjän terveysvaikutuksen kokonaisarviointia, koska laskeutunut pöly edustaa kuitenkin sitä hiukkasmassaa, joka on leijunut hengitysilmassa ja jolle tutkittavat henkilöt ovat altistuneet.

Kuolevista mikrobeista vapautuneilla pienhiukkasilla, partikkeleihin sitoutuneilla toksiineilla, bakteerien endotoksiinilla (**Täubel ym. 2011**), homeiden pintarakenteiden entsyymeillä ja kitiinillä onkin kokonaisriskinarvioinnissa mahdollisesti enemmän merkitystä kuin elinkykyisillä mikrobeilla (**Tonshin ym. 2010**). Homesienten pintarakenteiden entsyymien tai pölyn toksisuuden mittaamista ei rutiininomaisesti tehdä, vaikka eri kosteusvauriomikrobien solutoksisuus on osoitettu lukuisissa tutkimuksissa sekä Suomessa, että ulkomailla (**Hirvonen ym. 1999, Jussila vk 2003, Roponen ym 2013, Murtoniemi 2003, Wang vk 2018, Rudblad vk 2004**). Tutkimusta tulisikin jatkaa, koska tähän mennessä julkaisemissamme pilottikohteissa tulokset ovat olleet lupaavia (**TSR hankkeet 113065, 114151, 114168, 116050**). Eri toksiineja tunnetaan useita kymmeniä ja erillisten toksiinien mittaaminen on hyvin kallista. Lisäksi eri menetelmien toistettavuus ja yhteensovitus ei vielä ole kovin hyvä (**Hirvonen ym. 2012, Toxtest loppuraportti**). On ilmeistä, että eri testit mittaavat eri toksiineja, joita on olemassa kymmeniä erilaisia. Toksiineille ja endotoksiineille ei ole vielä olemassa viranomaisen asettamia viitearvoja (**Asumisterveysopas 2009**). Tutkimusta tarvitaan, jotta eri mittausten menetelmien käytölle voidaan antaa viranomaisohjeet ja viitearvot. Erityisesti kentällä tarvitaan nopeita, luotettavia, edullisia ja toistettavia testejä, joilla

terveydelle haitallinen altistuminen voidaan objektiivisesti osoittaa tilanteissa, joissa on viljelty potentiaalisesti toksineja tuottavia mikrobisukuja.

Tavoitteet

Hankkeen ja samalla Turun yliopistoon 2016 perustetun kliinisen tutkimusyksikkö TROSSIn tavoitteena on edetä Majvik II -suosituksen (**Kuronen 2007**) <http://urn.fi/URN:NBN:fi-fe201210019159> mukaisesti tiellä kosteusvaurioihin liittyvien ongelmien ja oireilujen selvittelyssä. Majvik-II suosituksen perustana oleva tieteellinen tutkimus on edelleen täysin perusteltua, eikä sitä kumoavaa tieteellistä tutkimusnäyttöä ole julkaistu.

Kliinisen tutkimusyksikön tavoitteena on em. laajan asiantuntijatyöryhmän ja WHO:n kansainvälisten suositusten mukaisesti (**WHO 2009**) tutkia työ- ja elinympäristön altisteiden terveysvaikutuksia lääketieteellisin, kliinifysiologisin, immunologisin ja toksikologisin menetelmin. Potilaisiin ja heidän työ- ja asuinympäristöönsä kohdistuvien mittauksien sekä kliinisen tutkimuksen avulla pyritään saamaan lisänäyttöä mekanismeista, joiden epäillään liittyvän työ- ja elinympäristön mikrobiologisiin, kemiallisiin ja fysikaalisiin altisteisiin. Tavoitteena on siis jatkaa sekä omia että THL:n ja TTL:n aiempia tutkimuslinjoja ja viedä niitä eteenpäin mahdollisesti rutiinikäyttöön tarkoitettuun diagnostiikkaan ja sisäilmapotilaiden käypähoitosuositukseen asti. Tulee muistaa, että usein mainittu Duodecim-yhdistyksen 'käypä hoito' –suositus koskee vain kosteus- ja homevaurioita perusterveydenhuollossa eikä yleisemmin sisäilman epäpuhtauksia eikä koske myöskään erikoislääkäritasoista terveydenhuoltoa tai sairaanhoitoa.

Hankkeen uutuusarvo

Hankkeen 180090 uutuusarvo muodostuu immunotoksikologisten menetelmien (**Atosuo ym. 2019 A ja B, Atosuo ym. 2012, Atosuo vk 2015, Jonsson ym. 2015, Kilpi ym. 2009, Lilius ym. 2009, Nuutila ym. 2013, 2014, 2018, Schlorke ym. 2016, Vilen ym. 2017**) yhdistämisestä objektiivisiin menetelmin mitattavaan oireiluun, keuhkofunktioon ja elimistön inflammaatiovasteisiin. Hankkeessa hyödynnetään laajaa kliinisistä potilasaineistoa, joka on valtakunnallisesti edustava ja satunnaisotantaan perustuva (25 000 vastaajaa, joista hoitoalalta 15 000, opetustoimesta 5000, palvelualoilta 2000, palo- ja pelastustoimesta vajaa 1000 molemmista ja maataloustyöstä yli 2500). Uudet altistumista kuvaavat menetelmät validoidaan suhteessa muihin rakennuksesta tehtäviin tutkimusmenetelmiin.

Näyttöä sisäilmaongelmien aiheuttamista terveyshaitoista on vuosikymmenten aikana kertynyt runsaasti. Edellä mainittujen sairauksien ja oireiden yhteydestä sisäilma-altisteisiin on saatu mm. TSR:n aikaisemman rahoituksen tuella useissa laajoissa tutkimushankkeissa (**TSR hankkeet 113065, 114151, 114168 ja 116050**). Tässä hankkeessa tutkittujen seerumin vasta-ainevasteiden ja mm. kiertävien immuunikompleksien tasojen nousun aiheuttamat riskit ja yhteys sairastumiseen on osoitettu viimeisen kolmen vuosikymmenen aikana tehdyissä urauurtavissa tutkimuksissa (**Patovirta vk 2005, Erkinjuntti-Pekkanen ym. 1997 ja 1999, Kokkarinen ym. 1997**). On osoitettu kosteusvauriomikrobeille altistumisen lisäävän astman riskin 4-5-kertaiseksi (**Pekkanen ym. 2007, Karvala ym. 2010**). Pitkäaikaisessa altistumisessa reuman ja nivelrikon riski kasvaa (**TSR hanke 100349**), ja rakennustyöntekijöille tulee muutoksia keuhkojen toiminnassa (**Rautiala ym. 2004**). Samoin palomiehillä (**Putus ym. 2016, Putus ym. 2017 A**), hoitajilla (**Hellgren ym. 2011, Putus ym. 2017 B**), viljelijöillä (**Erkinjuntti-Pekkanen ym. 1997 ja 1999**) ja opettajilla (**Putus ym. 2017 C**) on havaittu oireiden ja sairauksien liittyvän altistumiseen.

Samanaikaisesti TROSSI - yksikön biolääketieteellisen tutkimushankkeen rinnalla ovat TTL, HUS ja Kansaneläkelaitos (KELA) tutkineet sisäilmaoireilun käsittelyä ja hoitoa toiminnallisina häiriöinä, joita voitaisiin lähestyä psykoterapeuttisin menetelmin. Tutkimuksessa ei ole vielä saatu kovin lupaavia tuloksia, eikä testatun potilasryhmän oireilu ole merkitsevästi vähentynyt (**Vuokko ym. 2019, Vuokko ym. 2015, Selinheimo ym. 2020**). Sisäilmaongelmiin liittyy aina myös henkiset elementit, kuten pelko, syrjäytymisen tunne ja masennus, mutta oman tutkimuksemme lähtökohtana on ollut se, että altisteiden tutkiminen, niiden löytyminen ja altistuksen poistaminen ovat ensisijainen tie somaattisten ongelmien ratkaisussa. Potilaat tarvitsevat varmasti myös jälkihoitoa ja siinä yhteydessä myös tarpeen mukaan traumaterapiaa tai muuta tukea, siis sekä lääkitystä että kuntouttavia toimia jäljellä olevan työkyvyn tukemiseksi (**Kajanne ym. 2002**).

Sisäilmatutkimus on ajankohtainen ja merkittävä suomalaisen yhteiskunnan ongelma. Terveet tilat 2018-ohjelmassa tavoitteena on, että kaikki julkiset rakennukset saadaan kuntoon 10 vuoden kuluessa. Tästä ajasta on jo viidennes käytetty. Objektiivista tutkimustietoa tarvitaan toimintaohjelman tueksi, koska monenlaisia vääriä käsityksiä ja eripuraisia koulukuntia on päässyt syntymään. Tämä on vähentänyt väestön luottamusta viranomaisiin ja tutkimuslaitoksiin (**Kajanne ym. 2002**). Luottamuksessa on jo tutkimusten mukaan säröjä (**Husman ym. 2002**). Myös erilaiset epätieteellisistä lähtökohdista kumpuavat toimijat ovat saaneet tilaa sisäilmaongelmakentällä. Tässä yhteydessä on lisäksi todettava, ettei vahinkojen ja haittojen mittaamiseen ja toteamiseen ei ole olemassa yhtä, kaiken kattavaa testiä, vaan kohteiden tutkimuksessa on käytettävä yhdistelmänä erilaisia tilaa ja tilankäyttäjää analysoivia tutkimusmenetelmiä ja myös sairastuneet potilaat on tutkittava huolella, koska syntyviä sairauksia on monenlaisia (**Majvik II-suositus**). Vain korkeatasoisella riippumattomalla biolääketieteellisellä tutkimuksella ja moniammatillisen tutkijaryhmän riskinarvioinnin avulla voidaan vähentää huolta ja auttaa päätöksentekijöitä viisaaseen julkisten varojen käyttöön ja oikein suunnattuihin investointeihin. Tässä tutkimushankkeessa on monia uusia ja innovatiivisia altistumisen mittaamenetelmiä, jotka yhdistettynä toksisten vasteiden mittaamenetelmiin, ovat potentiaalisia myös virallisina tutkimusmenetelminä, ensin vanhojen menetelmien rinnalla ja myöhemmin korvaamassa vanhoja, hitaita ja kalliita analyysisysteemejä. Uusia diagnostisia menetelmiä tarvitaan sekä potilastyöhön että rakennusten tutkimiseen. Menetelmien tutkimuksessa suunnataan nopeasti ja paikan päällä tehtäviin 'in situ' -pikatesteihin, jotka voivat tulevaisuudessa nopeuttaa ja helpottaa vahinkojen ja altistumisen toteamista.

Viljelyyn perustuvien mikrobitestien menetelmät ovat peräisin 1950-luvulta. Uusia pikatestejä, kuten homeiden pintaentsyymien osoitukseen perustuvaa Mycometer-testiä tai vastaavaa ruotsalaista testiä ei ole vielä laajemmin otettu käyttöön (**Rylander ym. 2010**). Vastaavasti PCR-testeille ei edelleenkään ole olemassa toimenpideohjeita, vaikka monet kaupalliset toimijat näitä analyyssejä myyvätkin (**Kaarakainen ym. 2009**).

Tämän tutkimushankkeen tulokset tukevat valtiovallan monia pyrkimyksiä mm. terveyden edistämistä ja sairauksien ennaltaehkäisyä, työurien pidentämistä, työssä viihtymistä, työn tehokkuutta ja tuottavuutta. Tulokset tukevat myös Valtioneuvoston Terveet tilat 2028-hankkeen tavoitteita, vaikka hanke ei siinä virallisesti ole mukana. Oikein käytettynä hankkeessa kehitetyt mittarit tulevat parantamaan potilaiden diagnostiikkaa ja todennäköisesti pienentävät sisäilmasairauksista yhteiskunnalle aiheutuvia kustannuksia, kun päästään sairauksien varhaiseen toteamiseen siinä vaiheessa, kun terveyshaitat ovat vielä palautuvia.

3. Tutkimuksen teoreettinen ja käsitteellinen perusta

Tutkimuksen tavoitteena oli objektiivisten immunologisten vastemittausten ja immunotoksikologisten menetelmien testaus työpaikkarakennuksen aiheuttaman tulehdus- tai toksisuusvasteen toteamiseen työntekijöiltä.

Altistumistestien tulokset analysoidaan suhteessa terveysdataan: oireet, sairaudet, keuhkofunktiot ja verinäytteiden tulokset (leukosyyttiaktivaatiotestit, spesifit vasta-aineet, tulehdusvälittäjäaineet, komplementtisysteemin toimintatellit, mitokondriotestit sekä toksisuusmittaukset (Atosuo ym. 2019 A ja B, Atosuo ym. 2012, Atosuo vk 2015, Jonsson ym. 2015, Kilpi ym. 2009, Lilius ym. 2009, Nuutila ym. 2013, 2014, 2018, Schlorke ym. 2016, Vilen ym. 2017,). Osasta näistä menetelmistä osa on pilotoitu jo TSR:n hankkeissa 113065, 114151, 114168 ja 116050 (TSR hankkeet). Nyt on päästy tutkimaan kliinisissä aineistoissa astman lisäksi myös muita kroonisia sairauksia, diabetesta, sydänsairauksia, hypertoniata, ahtauttavaa keuhkosairautta, sarkoidoosia ja keuhkofibroosia, kilpirauhassairauksia, tulehduksellisia suolistosairauksia, nivelreumaa ja nivelrikkoa (Putus ym. 2016, Putus et al. 2017 A, B ja C). Ensimmäistä kertaa mitataan näin laajasta aineistosta sekä altistuminen että elimistön inflammatiovasteet. Aikaisemmin tutkimuksia on tehty vain eläinkokein, soluviljelmin tai KELA:n tiedostoista.

Tutkimuskysymyksiä:

- Löytyykö uusia työkaluja sisäilmaongelmaisten työtilojen ja niiden käyttäjien tutkimukseen?
- Voidaanko uusia altistustestejä sekä sisäilman toksisuusmittauksia em. perusteilla suositella viranomaiskäyttöön? Soveltuvatko uudet testit riskinarvioinnin apuvälineiksi työterveyshuollossa ja erikoissairaanhoidon diagnostiikkaan
- Miten hyvin uudet immunologiset altistumistestit (leukosyyttien aktivaatiotesti ja fenotyyppitys, vasta-ainetestit ja mitokondriotestit) korreloivat toksisuustesteihin ja toisaalta vanhoihin vasta-ainetesteihin, sekä oireisiin ja keuhkofunktioon?

4. Tutkimusmateriaali, analyysimenetelmät ja tulokset

Materiaalit

Turun Yliopiston SataKunta-hankkeesta tiimoilta saatiin kliiniseen tutkimukseen noin 300:n henkilön ryhmä kunta-alan työntekijöitä. Hoitoalan yli 15 000 henkilön aineistosta n. 7000 on ilmoittanut kiinnostuksensa kliiniseen jatkotutkimukseen. Opetusalan 5000 vastaajan aineistosta noin puolet on halukkaita osallistumaan tutkimukseen. Palo- ja pelastusalan vastaajista n. 300 on ilmoittautunut jatkotutkimukseen. Maanviljelijöistä n. 1000 on kiinnostunut osallistumaan ja PAMin palvelualan aineistosta n. 400. Kaikista näistä ammattiryhmistä on osallistunut tutkittavia.

Otanta on tehty ryväsotannalla Turun lähiympäristöstä, kouluja, paloasemia ja toimistotyöpaikkoja. Kultakin työpaikalta on tutkittu kaikki vapaaehtoiset riippumatta siitä, onko heillä oireita vai ei. Kullekin sisäilmaongelmaiselle työpaikalle on pyritty löytämään vaurioitumaton vertailukohde. Aina tämä ei kuitenkaan ole onnistunut. Lisäksi työpaikoilta on

kerätty pölynäytteitä toksisuusmittauksiin. Mikrobin viljelyä varten on kerätty pinta- ja materiaalinäytteitä.

TROSSI-yksikön laitteiston avulla on mitattu osallistuvilta keuhkojen toimintaa ja otettu tarvittavat verinäytteet. Mittaukset on pyritty tekemään työpaikoilla tai mahdollisimman lyhyen matkan päässä laboratoriosta, koska keuhkofunktiot normaalistuvat pian altistumisen päättymisen jälkeen. Tähän perustuu myös työpaikka-PEF-seurannan tekeminen ja siinä nähdään työ- ja kotiympäristön välinen ero.

Pölynäytteitä ja seeruminäytteitä on myös pakastettu tulevia tutkimuksia varten. Hankkeessa on jatkoanalysoitu uusilla vasteenmittausmenetelmillä aiemmin kerättyjä (TSR:n rahoittamien projektien) näytteitä, koska altistumismittaukset on niitä koskevista työpaikoista tehty jo aikaisemmin. Lisäksi on kerätty aineistoja uusista kohteista.

Leukosyyttitestien, varsinkin virtausytometrinen analyysien tekeminen autossa ei ole mahdollista, koska liikkuvaan laboratorioon soveltuvaa laitekantaa ei ole. Tämä on rajoittanut jonkin verran testattujen potilaiden määrää, koska näitä analyysjä varten tutkittavien on pitänyt tulla testattavaksi Turun laboratorioon. Vastemittauksiin tarkoitettu verinäytettä ei voi säilöä, koska mitattava vaste häviää soluista muutamien tuntien sisällä ja näytteet on tutkittava laboratoriossa vielä samana päivänä. Seeruminäytteet ovat kuljetuskelpoisia ja ne voidaan myös pakastaa myöhempää käyttöä varten.

Kliinisessä laboratoriotutkimuksessa käytetyt tutkimusmateriaalit

Kliiniseen laboratoriotutkimukseen osallistuneista kohteista työntekijöille tehtiin edeltävästi oirekyselyt. Lisäksi testattavalta potilaalta mitattiin veren valkosolujen erittelylaskenta ja herkkä CRP (tuloksia ei esitetä tässä raportissa). Kohteista on tehty laskeutuneen pölyn toksisuusmittaukset *E. coli*-lux menetelmällä.

Materiaali I: seeruminäytteet

1. Vauriokohteet (todetut mikrobivauriot mm. *Streptomyces albus* ja *Aspergillus versicolor*)
Toksisuus mitattu *E. coli*-lux menetelmällä ja jokaisessa kolmessa rakennuksessa on todettu toksisia pölynäytteitä.

3 rakennusta yhteensä 70 koehenkilöä

- TK-rakennus Itä-Suomessa 26 henkilöä
- Kerrostalo Etelä-Suomi 18 henkilöä
- Etelä-Suomalaisen paloaseman A miehistön asunto- ja ruokailutilat 26 henkilöä

2. Referenssikohteet (ei todettuja mikrobivaurioita, ei merkitsevästi toksisia näytteitä)
Toksisuus mitattu *E. coli*-lux menetelmällä, eikä kohteista ole löydetty merkitsevästi toksisia näytteitä.

4 rakennusta yhteensä 89 koehenkilöä

- Etelä-Suomalaisen paloaseman B miehistön asunto- ja ruokailutilat, 11 henkilöä
- Etelä-Suomalaisen paloaseman C miehistön asunto- ja ruokailutilat, 12 henkilöä
- Etelä-Suomalaisen paloaseman D miehistön asunto- ja ruokailutilat, 7 henkilöä

- Etelä-Suomalainen koulurakennus, 59 näytettä

Tätä tutkimushanketta varten on kehitetty mikrobimateriaalista työstetty antigeeni, jonka avulla tehtiin itiöspesifiset vasta-ainetutkimukset (Atosuo et al. 2019). Lisäksi on analysoitu seerumista kiertävät immuunikompleksi, neutrofiilien seerumivasteet, sytokiinitestit, FGF-21-analyysi sekä seerumin komplementtisysteemin aktiivisuustestit.

Materiaali II pitkäaikaissurantakohde (seuranta jatkuu): seeruminäytteet, kokoverinäytteet

1. Eteläsuomalainen koulu, vauriokohde, jonka henkilökunta siirtyi väistötiloihin vuoden 2019 vaihteessa.
 - Marraskuu 2018: 1. käynti, vanha vaurioitunut koulurakennus, mittauksiin osallistui 43 koehenkilöä.
Todetut kosteusvauriomikrobeja mm. *S. albus* ja *A. versicolor*), rakennuksessa merkitsevästi toksisia pölynäytteitä.
 - Maaliskuu 2019: 2. käynti, koulutyö siirtynyt uusiin väistötiloihin, työntekijöiltä saatiin 31 seeruminäytettä. Ei mikrobilöydöksiä, eikä merkitsevästi toksisia pölynäytteitä väistötiloissa.
 - Marraskuu 2019: 3. käynti, uusi lukukausi väistötiloissa, saatu 28 seeruminäytettä. Ei mikrobilöydöksiä, eikä merkitsevästi toksisia näytteitä.
 - Maaliskuu 2020: 4. käynti, vuosi väistötiloissa

2. Etelä-Suomalainen koulu rakennus yhteensä 59 koehenkilöä
Referenssikohde (ei todettuja mikrobivaurioita, eikä merkitsevästi toksisia näytteitä)

Aineistosta tehty itiöspesifiset vasta-ainetutkimukset, neutrofiilien *in vivo* –testi, seerumin kiertävät immuunikompleksianalyysit, sytokiinianalyysit ja FGF-21-analyysit. Materiaalin keräys kohteesta edelleen jatkuu ja on tarkoitus jatkaa myös korjattuun rakennukseen palaamisen jälkeen.

Materiaali III seeruminäytteet, kokoverinäytteet

Eteläsuomalainen yliopisto, laitosrakennus 1, vauriokohde (todetut mikrobivauriot mm. *S. albus* ja *A. versicolor*), rakennuksessa merkitsevästi toksisia pölynäytteitä

- Yhteensä 12 koehenkilöä

Etelä-Suomalainen yliopisto, laitosrakennus 2, referenssikohde (ei mikrobivaurioita mikrobivauriot mm. *S. albus* ja *A. versicolor*), rakennuksessa ei merkitsevästi toksisia pölynäytteitä.

- Yhteensä 6 koehenkilöä

Materiaalista analysoitu itiöspesifiset vasta-aineet, seerumin kiertävät immuunikompleksianalyysit, neutrofiilien *in vivo* testit, sytokiinianalyysit ja FGF-21-analyysi.

Materiaali IV seeruminäytteet, pitkäaikaissurantaakohde (seuranta alkanut joulukuussa 2019): seeruminäytteet, kokoverinäytteet

Eteläsuomalainen koulu, vauriokohde, jossa koulutyö edelleen jatkui, rakennuksessa merkitsevästi erittäin toksisia pölynäytteitä

- Yhteensä 32 koehenkilöä

Aineistosta analysoitu keuhkofunktioiden lisäksi sytokiinitasoja.

Materiaali V seeruminäytteet, kokoverinäytteet

- Yhteensä 44 oireilevaa koehenkilöä eri työpaikkarakennuksista

Aineistosta analysoitu virtausytometrianalyysit, itiöspesifiset vasta-ainetutkimukset, seerumin kiertävät immuunikompleksit, neutrofiilien *in vivo* testit, sytokiinianalyysit ja FGF-21-analyysi.

Tämän ryhmän koehenkilöiden näytteitä käytetty testimenetelmien kehittelyyn ja validointiin.

Tutkimusmateriaalia ja kohteita on runsaasti, eikä kaikkea mahdollisia tutkimustuloksia esitetä tässä raportissa. Kaikista hankkeessa testatuista menetelmistä esitetään pääasialliset löydökset ja periaatteet. Lisäksi osa tuloksista, kuten neutrofiilien seerumitestit, itiöspesifiset IgG2-alaluokat ja seerumin kiertävät immuunikompleksitestien tulokset on lähetetty julkaistavaksi kansainvälisessä tiedelehdessä eikä tuloksia voida kokonaisuutena julkaista. Näistä testeistä on kuitenkin esitetty osa materiaaleista ja edellä kuvatuista testeistä on tässä raportissa julkaistu tuloksia Sisäilmaseminaariin 2020 kirjoitetuista artikkeleista. Osa aineistosta on jo julkaistu vertaisarvioidussa lehdessä, kuten itiöspesifisten seerumin vasta-aineiden tutkimukseen kehitetty ELSA-menetelmä (Atosuo ym. 2019). Osa menetelmistä on edelleen aineiston keräys- ja analyysivaiheessa ja työ jatkuu TROSSI-yksikön muissa hankkeissa. Hankkeen aikana kerättyjä aineistoja pyritään käyttämään jatkossakin uusien menetelmien validointiin ja kehittelyyn.

Johtopäätösoiosiossa arvioidaan selvittämään tulosten merkitsevyys ja niiden käyttömahdollisuudet sisäilmaongelmaisten työpaikkarakennusten vaurioiden selvittämisessä.

Menetelmät ja tulokset

Tilastomenetelmät

Oire-, infektio- ja sairaustiedot yhdistettiin keuhkofunktiodatan, immunologisen datan ja toksisuusmittausten ja mikrobitulosten, sekä rakenneteknisten tietojen kanssa. Altistuneita verrattiin altistumattomiin ja toksisuuden suhteen eriasteisesti altistuneita verrattiin toisiinsa ja altistumattomiin. Analyysissä on tarkasteltu erojen merkitsevyyttä ottaen huomioon sekoittavat tekijät kuten ikä, sukupuoli, ammatti, tupakointi ym. taustatiedot. Testauksessa käytettiin khiin neliötestiä, Fisherin tarkkaa testiä ja monimuuttujamallitusta.

Oirekyselyt:

Ryväsotannalla valituissa työpaikoissa työntekijöille on tehty validoidut oirekyselyt (Andersson 1993, Susitaival ym. 1996, Savilahti 2009). Kullekin kohteelle on saatu vaurioitumaton vertailurakennus. Oirekyselyjen tuloksia verrattaessa vauriokohteiden oiretasot ovat olleet korkeammat kuin vertailukohteissa. Seurannassa oireilun on lähes poikkeuksetta havaittu vähenevän korjausten jälkeen ja väistötiloissa. Kaikissa osa-aineistoissa I – IV tämä oli selkeästi havaittavissa. Tutkimuksesta on kirjoitettu suomenkielinen artikkeli vuoden 2020 Sisäilmastoseminaariin (Vilén ym. 2020)

Seurantatutkimus aloitettiin syksyllä 2018 ja tutkimukseen kutsuttiin koko koulun henkilökunta, osallistujat haastateltiin, sekä tehtiin keuhkojen toimintakokeet ennen siirtymistä väistötiloihin (I-vaihe). Seuraavana keväänä, kolme kuukautta väistötiloihin siirtymisen jälkeen oli II-vaihe ja puolen vuoden kuluttua siitä III-vaihe. Viimeinen, IV-vaihe tullaan tekemään siinä vaiheessa, kun alkuperäisen koulun remontti on valmistunut ja henkilökunta on palannut entisiin tiloihinsa.

Terveystilaa koskevat tiedot, oireet ja sairaudet sekä käytetty lääkitys on kerätty haastatteleamalla keuhkojen toimintatutkimuksen yhteydessä. Tutkimuksessa tutkittavat on luokiteltu oireilun vaikeusasteen perusteella neljään luokkaan: vakavasti oireilevat, kroonisesti oireilevat, ärsytys- ja yleisoireita altistuessa ja ei oireita (Taulukko 1). Kun esimerkiksi astma ei ole hallinnassa ja hoitotasapaino on huono, voidaan puhua ”vakavasti oireilevasta”, mutta kun hoitotasapaino (=oireettomuus ja normaali keuhkojen toiminta) on saavutettu, voidaan oireiden osalta olla tilanteessa ”ei oireita”.

Taulukko 1. Oireiden luokittelu

Oireiden vaikeusaste	Sisältäen mm.
Vakavasti oireilevat	hoitotasapainoton astma ja vaikeat hengenahdistukset/hengitysvaikeudet
Kroonisesti oireilevat	allerginen nuha, infektiosairaudet kuten poskiontelotulehdukset, akuutit ja krooniset bronkiitit
Ärsytys- ja yleisoireita altistuessa	nenän tukkoisuus, silmien kutina, ihon kutina, äänen käheys, väsymys ja päänsärky
Ei oireita	Oireeton

Aineisto analysoitiin kuvailevin tilastotieteellisin menetelmin SPSS25-ohjelmalla (IBM Corporation, Armonk, New York, United States). Menetelmää voidaan pitää yhteenvedona kerätystä aineistosta (Greasley 2008). Tarkasteltaessa eri ajankohtina oireiden esiintyvyyden merkitsevyyttä, käytettiin Wilcoxonin merkittyjen järjestyslukujen testiä.

Ensimmäiselle tutkimuskäynnille saapui 45 henkilöä; 30 naista ja 15 miestä, keski-ikä oli 44,5 vuotta. Tutkittavista neljä tupakoi. II-vaiheessa, osallistujia oli 32 ja III-vaiheessa 28. Seuranta-aikana yhteensä seitsemän oli vaihtanut työpaikkaa tai siirtynyt eläkkeelle; kaksi vakavasti oireilevaa, kolme kroonisesti oireilevaa ja kaksi ärsytys- ja yleisoireilevaa.

Ensimmäisellä tutkimuskäynnillä, valtaosa (n=38/85%) henkilökunnasta oireili eriasteisesti; lievistä oireista, kuten päänsäryistä ja vastaavista ärsytys- ja yleisoireista aina sairaalahoitoa vaativiin astmakohdauksiin asti. Sukupuolen tai tupakoinnin ja oireiden vaikeusasteen välillä ei ollut tilastollisesti merkitsevää eroa. Oireiden esiintyvyys seurannan eri vaiheissa on kuvattu taulukossa 2 ja muutokset oireiden esiintyvyydessä taulukossa 3.

Taulukko 2. Oireiden esiintyvyys seurannan eri vaiheissa (n % vastanneista)

Oireet	I-vaihe (N=45)	II-vaihe (N=32)	III-vaihe (N=28)
Vakavasti oireilevat	4/9	-	-
Kroonisesti oireilevat	17/38	-	-
Ärsytys- ja yleisoireilevat	17/38	16/50	2/7
Ei oireita	7/15	16/50	26/93

Taulukko 3. Muutokset oireissa seurannan eri vaiheissa (n % vastanneista)

Oireet	I-vaihe → II-vaihe N=32		I-vaihe → III-vaihe N=28	
Vakavasti oireilevat	2/6	-	1/4	-
Kroonisesti oireilevat	14/44	-	12/43	-
Ärsytys- ja yleisoireilevat	12/38	16/50	11/39	2/7
Ei oireita	4/12	16/50	4/14	26/93

Ensimmäiseen seurantaan mennessä (vaihe-II) oireet olivat lievittyneet (n=12) tai hävinnyt kokonaan (n=11) 82 %:lla oireilevista. Lähtötilanteeseen verrattuna, vaiheessa-III oireet olivat hävinneet kokonaan (n=22) tai lievittyneet (n=2) kaikilla oireilevista. Seuranta-aineistossa ei ollut enää yhtään vakavasti tai kroonisesti oireilevaa väestötiloissa. Oireiden väheneminen vaiheissa -II ja -III oli molemmissa tilastollisesti merkitsevää ($p<0,001$).

Löydökset keuhkojen toimintatutkimuksissa myös tukevat koettujen sisäilmaan liittyvien oireiden trendiä; väestötilaan siirtymisen jälkeen myös keuhkofunktiot paranivat sekä keskiarvoisesti että yksilötasolla (Päivinen ym. 2020).

Keuhkofunktiotestit:

Vaurioituneiksi todetuissa rakennuksissa työskenteleville tiedetään koituvan terveydellisiä haittoja ja fysiologisia muutoksia ja oireita, joiden jatkuvuudesta terveissä tiloissa ei ole tarkkaa tietoa. Tutkimuksen tarkoituksena oli selvittää miten siirtyminen terveisiin tiloihin vaikuttaa koulun henkilökunnalta mitattuihin keuhkofunktioihin. Tutkimus osoitti, että terveisiin tiloihin siirtymisellä oli selkeä vaikutus työntekijöiden fysiologisiin vasteisiin keuhkofunktioiden avulla mitattuna.

Koulun (Tutkimusmateriaali II) työntekijöiden keuhkojen toimintakykyä tutkittiin spirometrian avulla ilman virtauksen ja tilavuuksien osalta ja uloshengityksen typpioksidin (FENO) mittauksella selvitettiin keuhkojen tulehduksellista tilaa. Samassa yhteydessä suoritettiin oirekysely. Tutkimukset suoritettiin ensin vauriotiloissa työskentelyn aikana ja toistettiin kolme kuukautta terveisiin tiloihin siirtymisen jälkeen. Alkumittauksiin osallistui 45 ja seurantaan 30 koulun työntekijää.

Spirometrian mittaukset suoritettiin Medikron Spirostar (Medikro, Kuopio, Suomi) spirometrillä kansainvälisten American Thoracic Society ATS:n (American Thoracic Society 1991) ja European respiratory society ERS:n (Pellegrino ym. 2005) suositusten mukaisesti. Saatuja tuloksia verrattiin ikää kokoa ja sukupuolta vastaaviin viitearvoihin (Kainu ym. 2015) Uloshengityksen typpioksidimittaukset (Sandrini ym. 2009) suoritettiin Aerocrinen Niox vero (Aerocrine Tukholma Ruotsi) laitteella. Tutkimuksesta on kirjoitettu suomenkielinen artikkeli Sisäilmastoseminaariin 2020 (Päivinen ym. 2020).

Alkumittauksissa, jotka suoritettiin vauriotiloissa työskentelyn aikana, spirometriaan osallistui 41 tutkittavaa. Heistä normaali keuhkofunktion löydös saatiin 24:lla, ja poikkeava löydös 16:lla. Uloshengityksen typpioksidimittaukseen (FENO) osallistui ensin 44 tutkittavaa ja tulos oli keskimäärin 17ppb (SD 9). Normaalilöydös FENO<20ppb oli 30:lla tutkittavalla (**taulukko 4**), normaali/koholla FENO 20-30ppb 10:lla tutkittavalla ja koholla 4:lla tutkittavalla. Seurannassa vaurioituneista tiloista siirryttyä terveisiin tiloihin kolmen kuukauden jälkeen tutkimukseen osallistui 30 henkilöä. Heistä normaali spirometria löydös saatiin 21:lla ja poikkeava löydös 9:llä. FENO mittaukseen osallistui 30 tutkittavaa ja tulos oli keskimäärin 13ppb (SD 6). Seurannassa FENO<20ppb oli 26:lla tutkittavalla, normaali/koholla FENO 20-30ppb 3:lla tutkittavalla ja koholla 1:lla tutkittavalla (**taulukko 5**).

Seurantajakson aikana spirometria-tulokset paranivat sekä ryhmätasolla että henkilökohtaisessa seurannassa.

Taulukko 4. Spirometrian tulosten henkilökohtaiset muutokset kolme kuukautta terveisiin tiloihin siirtymisen jälkeen

Muutos spirometrian alkumittauksesta seurantamittaukseen	N=30
Normaali -> Normaali	14/30
Lievä aleneminen -> Normaali	6/30
Lievä aleneminen -> Lievä aleneminen	5/30
Kohtalainen aleneminen -> Kohtalainen aleneminen	2/30
Ei pystynyt puhaltamaan -> Normaali	2/30
Normaali -> Kohtalainen aleneminen *	1/30

*Henkilö kärsi pitkittyneistä poskiontelontulehduksista

Uloshengityksen typpioksidimittaukseen (FENO) osallistui ensin 44 koehenkilöä ja seurannassa 30: Keskimääräisesti ryhmän FENO taso parani 2,6 ppb

Taulukko 5. Uloshengityksen typpioksidin tulosten henkilökohtaiset muutokset kolme kuukautta terveisiin tiloihin siirtymisen jälkeen

Uloshengityksen typpioksidin alku ja seurantamittausten tulokset	N=30
Normaali -> Normaali	14/30
Normaali koholla -> Normaali	6/30
Normaali koholla -> Normaali koholla	5/30

Tupakoivien osuus tutkimusjoukossa oli vähäinen. Seurantaan osallistuneista 30:stä tutkittavasta kolme ilmoitti tupakoivansa. Tupakoivilla tutkittavilla spirometrian löydökset eivät muuttuneet terveisiin tiloihin siirtymisen myötä.

Immunologiset vastemittaukset

1. Neutrofiilien seerumivaste:

Altistuvien seerumin itiöspesifien ja opsoniineina toimivien vasta-aineiden tasojen mittaus. Vaste ilmenee kemiluminesenssi-signaalin nousuna (**Vilén ym. 2017, Liljus ym. 2006**).

Tutkimuksemme tarkoitus oli kehittää kemiluminesenssiin (KL) perustuva menetelmä seerumin kohonneen itiöspesifisen IgG-pitoisuuden määrittämiseksi. Menetelmä hyödyntää biosensorina veren neutrofiileja, joiden reaktiivisten happiyhdisteiden tuotto seerumilla opsonisoituja itiöitä kohtaan lisääntyy seerumin itiöspesifisen IgG-pitoisuuden kasvaessa.

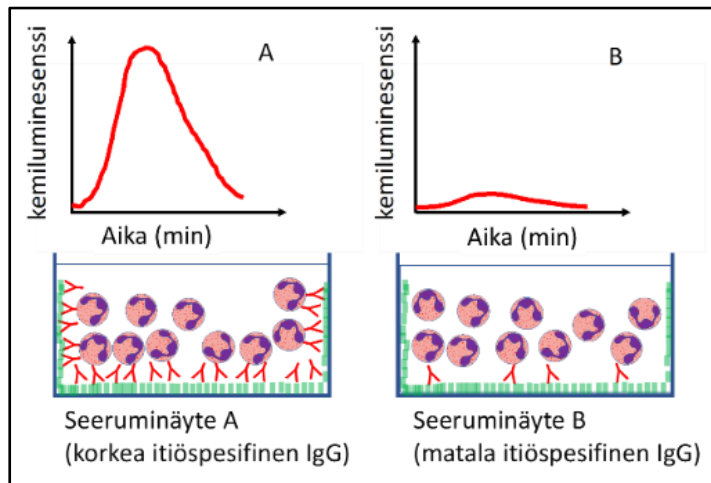
Noin puolet veren valkosoluista on immuunipuolustuksen eturintamassa toimivia neutrofiilejä, joiden pääasiallinen tehtävänä immuunipuolustuksessa on hakeutua verenkierrosta tulehtuneeseen kudokseen, kiinnittyä siellä reseptorivälitteisesti kohdeantigeeniin, sekä lopulta fagosytoida ja tuhota se. Suurin osa neutrofiilien fagosytoosin yhteydessä tuotetuista antimikrobiaalisista yhdisteistä (happiradikaalit, antimikrobiaaliset peptidit) eritetään fagosomiin, mutta osa niistä vapautuu myös solun ulkopuolelle aiheuttaen vahinkoa terveelle kudokselle. Tämä saattaa olla hyvin haitallista varsinkin tulehduksen kroonistuessa (**Hurst 2012, Kettle ym. 1988**)

Neutrofiilien fagosytoosireaktion aktivoitumista ja etenemistä voidaan tutkia hyödyntämällä luminolivahvisteista KL-mittausta. Tuottaessaan erilaisia reaktiivisia happiyhdisteitä neutrofiileistä vapautuu molekyylien välisissä siirtymätiloissa valokvantti (natiivi bioluminesenssi), joka voidaan vahvistaa luminolilla 10000-kertaiseksi luminometrillä mitattavaksi KL-valoksi (**Vilén ym. 2017, Lilius ym. 2006**)

Tehdyssä pilottitutkimuksessa mitattiin seerumin itiöspesifisten vasta-aineiden aiheuttamaa neutrofiilien aktivaatiota heterologisessa *in vitro* -kokoverisysteemissä. Reaktion havainnointi perustuu herkkään luminolivahvistaiseen KL-mittaukseen, jossa hengitysryöpsähdyksessä (respiratory burst) syntyvää, MPO- systeemin aktivaatioon liittyvää hapetus-pelkistysreaktiota mitataan sen tuottaman valosignaalin, KL:n, välityksellä (**Vilén ym. 2017, Lilius ym. 2006**). Tutkimuksessa antigeenin annettiin reagoida tilankäyttäjien seeruminäytteiden kanssa, minkä jälkeen reaktioseokseen lisättiin neutrofiilit laimennettuna kokoverisuspensiona ja määritettiin reaktiivisten happiyhdisteiden tuottoa kemiluminesenssisignaalin korkeuden perusteella. KL:n voimakkuuden ja testiseerumin itiöspesifisten IgG-vasta-aineiden pitoisuuden välillä havaittiin positiivinen korrelaatio.

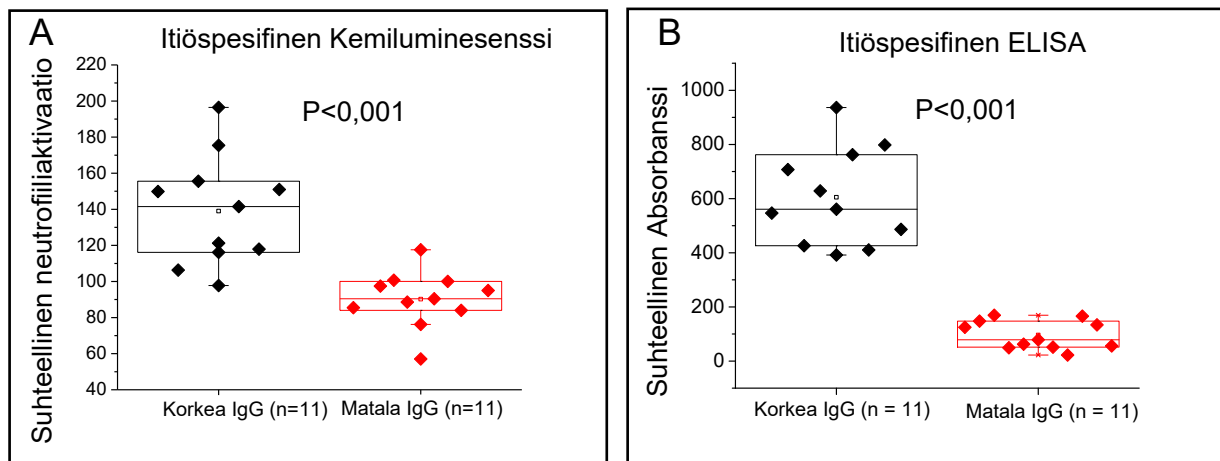
Mittauksessa neutrofiilejä ei eristetä, vaan reaktio tehdään kokoverilaimennoksena. Reaktioon lisätään käytännössä koko valkosolujen populaatio, josta noin puolet on neutrofiilejä. Myös monosyytit sisältävät MPO:ta, mutta monosyyttien osuus kokoveren totaali KL-vasteesta on vain noin 1 % (**Vilén ym. 2017, Lilius ym. 2006**).

Pilottitutkimuksen seerumit olivat peräisin kahden rakennuksen (terveyskeskusrakennus Itä-Suomi ja asuinrakennus Etelä-Suomi) työntekijöiltä tai tilankäyttäjiltä (Materiaali I). Molemmista rakennuksissa oli todettu *S. albus* aiheuttama mikrobivaurio. Kohteista valittiin ne seerumit, joiden itiöspesifiset (*S. albus* - itiö) IgG-pitoisuudet olivat korkeimmat ja ne, jotka olivat matalimmat (**Atosuo ym. 2019 B**). Tutkimus tehtiin ns. heterologisena systeeminä, jossa käytetyt solut eivät olleet koehenkilöiden omia, vaan testeissä käytettiin saman, koejärjestelyjen ulkopuolisen, terveen aikuisen henkilön neutrofiilejä (**Kuva 2**).



Kuva 2: Menetelmän perusperiaate. Henkilön A seeruminäytteestä oli korkeammat itiöspesifiset IgG vasta-ainearvot kuin henkilön B:llä. Pallot kuvaavat neutrofiilejä, Y:t itiöspesifisiä vasta-aineita ja pienet vihreät partikkelit itiöitä. Antigeeni-itiöt on immobilisoitu kuoppalevyn kaivoihin. Seeruminäytettä inkuboidaan kaivoissa ja pestään pois. Tämän jälkeen kaivoihin lisätään kokoverilaimennokset ja KL-signaalia mitataan luminometrillä.

Henkilöillä, joiden antigeenispesifiset IgG-tasot olivat koholla, oli myös kohonnut neutrofiilivasteet (happiradikaalien tuotanto) testiseerumilla opsonisoituja mikrobiantigenejä vastaan (**Kuvat 3A ja 3B**).



Kuva 3: Tulokset on esitetty A) KL-signaalin B) absorbanssin (ELISA –testi) suhteellisin maksimiarvoina. Mittauksissa on käytetty samoja potilas-seerumeita ja testiseerumikaivojen maksimiarvot on suhteutettu taustakaivojen (A: ei testiseerumia ja B: taustaseerumi (**Atosuo ym. 2019 B**)). maksimiarvoon siten, että tausta on merkitty arvolla 100. Kumpaankin ryhmään on valittu näytteitä kahdesta isosta kohteesta. Kaikki tulokset ovat kahden kaivon keskiarvolukemia. Toisesta kohteesta (terveyskeskusrakennus Itä-Suomessa) 6 korkean ja 6 matalan IgG arvon seerumia ja toisesta (asuinrakennus Etelä-Suomessa) 5 korkean ja 5 matalan arvon seerumia. Epälineaarisen jakauman vuoksi p-arvot määritettiin käyttäen Mann-Whitneyn U-testiä.

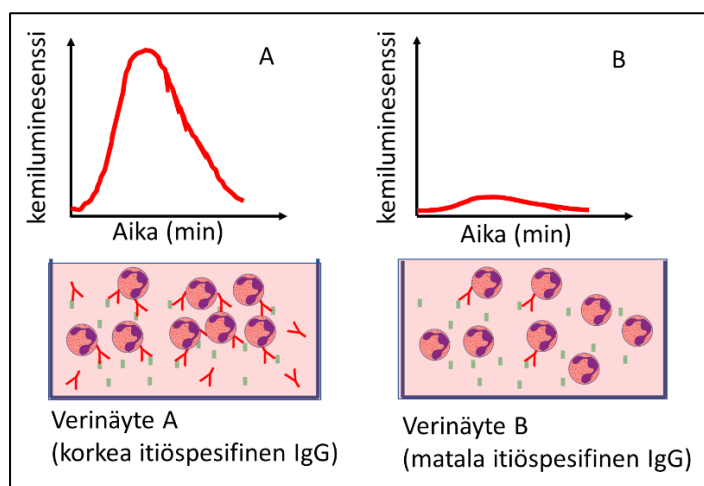
KL-mittauksissa (**Kuva 3A**) korkean IgG-arvon seerumeista kaksi (2/11) oli lähellä taustaa ja yhdeksän (9/11) näytteistä antoi selvästi kohonneen soluvasteen. Matalan arvon seerumeilla yksi (1/11) antoi tausta-aktivaatiosta korkeamman soluvasteen ja muut kymmenen näytettä (10/11) saivat joko tausta-arvon tai sitä pienemmän aktivaation. Erot ryhmien välillä olivat tilastollisesti merkitsevät. Epälineaarisen jakauman vuoksi p-arvo määritettiin käyttämällä Mann-Whitneyn U-testiä.

Tutkimuksesta ollaan julkaisemassa artikkelia suuremman potilasmateriaalin tuloksista kansainvälisessä, vertaisarvioidussa tiedelehdessä.

2. Neutrofiilien in vivo-testi, autologinen systeemi (PIKATESTI-aihi):

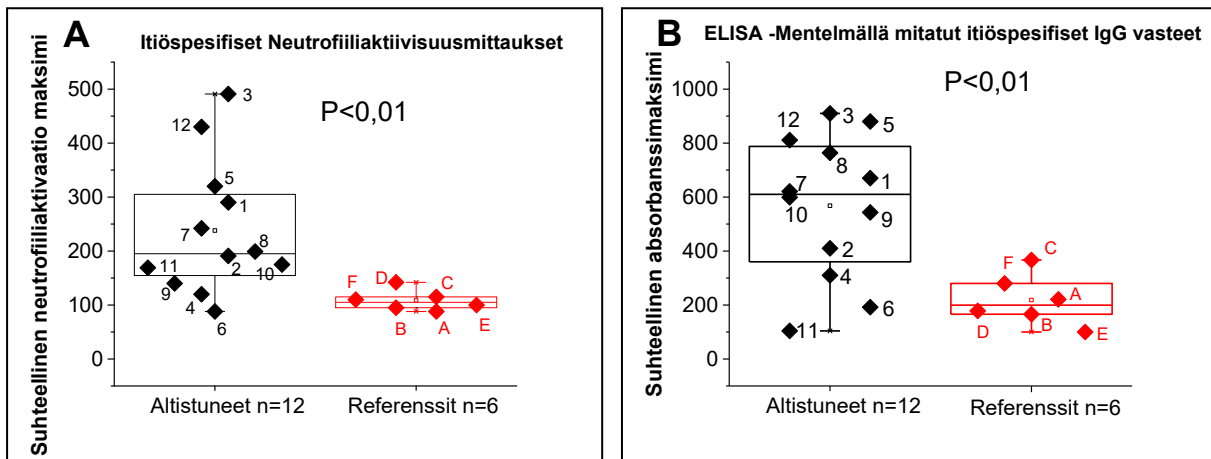
Testissä verrataan altistuneiden soluvastetta kontrollien KL-vasteeseen *in vivo*. Kokoverestä tehtävä mittaus esim. sormenpääverestä mahdollistaa *in situ* pikatestimenetelmien kehittämisen (Lilius *ym.* 2006, Zemans 2017). Menetelmä on perusteeltaan sama kuin kohdan 2. Neutrofiilien seerumivaste (Kuva 4 ja Kuva 5):

Tässä altistuneiden henkilöiden seerumin itiöspesifien ja opsoniineina toimivien vasta-aineiden tasojen mittaus tapahtuu autologisessa systeemissä, jossa testattavan henkilön sormenpääverestä tutkitaan mahdollisten spesifisten vasta-aineiden ilmeneminen. Menetelmä käyttää testisoluina verinäytteessä olevia testihenkilön omia neutrofiilejä ja vaste ilmenee KL-signaalin nousuna (Vilén *ym.* 2017, Lilius *ym.* 2006). Tehdyissä tutkimuksissa testissä on käytetty vain liukoista antigeeniä, eli itiöitä. Menetelmää testataan mahdollisen ”pikatestimenetelmää” varten, jossa henkilön sormenpääverestä voitaisiin, tietyn rajoituksen, nopeasti testata, onko kysymys altistumisesta. Analyysi on tehtävä tuoreverinäytteestä 2 h:n sisällä näytteenotosta.



Kuva 4: Menetelmän peruseriaate. Henkilön A verinäytteessä oli korkeammat itiöspesifiset IgG vasta-ainearvot kuin henkilöllä B:llä. Pallot kuvaavat neutrofiilejä, Y:t itiöspesifisiä vasta-aineita ja pienet partikkelit itiöitä. Antigeeni-ovat reaktiossa liukoisenä. Tämän jälkeen kaivoihin lisätään kokoverilaimennokset ja kemiluminesenssisignaalia mitataan Hidexin koeputkiluminometrillä (kenttämalli).

Testissä altistuneiden näytteet olivat selvästi korkeammalla kuin referenssinäytteiden vastaavat arvot. Yksilöiden neutrofiilitestien tulokset korreloivat hyvin mitattujen itiöspesifisten IgG arvojen kanssa (Kuva 5).



Kuva 5: Tulokset on esitetty A) KL-signaalin B) absorbanssin (ELISA –testi) suhteellisina maksimiarvoina (30 min mittauksen jälkeen). Mittauksissa on käytetty samoja potilasseerumeita ja testiseerumikaivojen maksimiarvot on suhteutettu taustakaivojen maksimiarvoon siten, että tausta (kuviissa E näyte) on merkitty arvolla 100.

Testaukseen valittiin Etelä-Suomalaisen yliopiston mikrobivaurioitunut (*Streptomyces*, *Versicolor*) laitusrakennuksessa työskenteleviä oireilevia henkilöitä, joita saatiin solutestiin Biokemian laitokselle 12 kpl. (kuvassa henkilöt 1-12) sekä 6 referenssinäytettä (kuviissa henkilöt A-E) saman yliopiston muista laitusrakennuksista, joissa vaurioita ei oltu havaittu. Testissä käytetty antigeeni oli kolmen vauriomikrobin (*S. albus*, *A. versicolor* ja *P. expansum*) itiöistä tuotettu yhdistelmäantigeeni. Epälineaarisen jakauman vuoksi p-arvot määritettiin käyttäen Mann-Whitneyn U-testiä. Statistiikkalaatikko on mallia 25 %, 75 %, viiva on mediaani, viikset edustavat standardipoikkeamaa, ympyrä on keskiarvo ja rastit minimi ja maksimiarvoja.

KENTTÄTESTAUS:



Kuva 6: Kenttälaboratorio

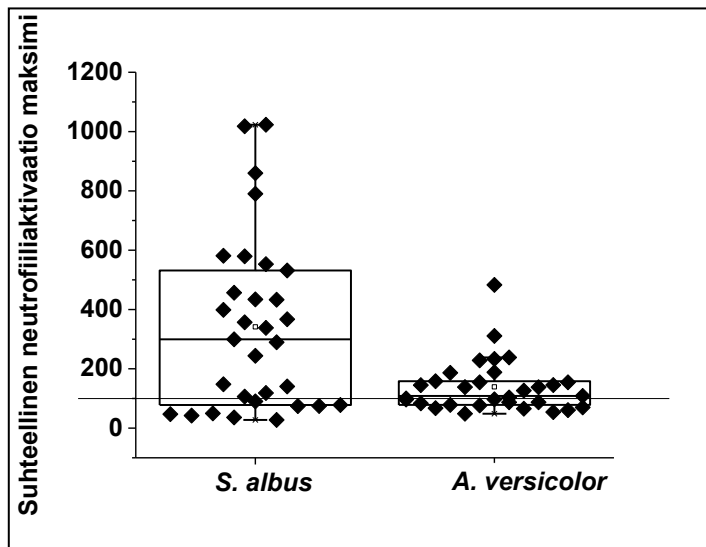
Menetelmää testattiin kenttäkäytössä maaliskuussa 2019 etelä-suomalaisen lukion koko henkilökunnalle (n=31). Koulu oli vuoden vaihteessa siirtynyt vauriorakennuksesta väistötiloihin ja kyseessä oli ensimmäinen seurantakäynti kohteessa. Vapaaehtoiselta henkilökunnalta kerättiin verinäytteet ja heille tehtiin keuhkofunktiomittaukset.

Menetelmälle perustettiin koulun kellariin pieni laboratorio (**kuva 6**), jossa kerättyjä henkilökunnan verinäytteitä testattiin kolmen päivän ajan manuaalisesti, pienellä

kenttäluminometrillä. Antigeneinä käytettiin kahta eri mikrobia (*S. albus*, *A. versicolor*).

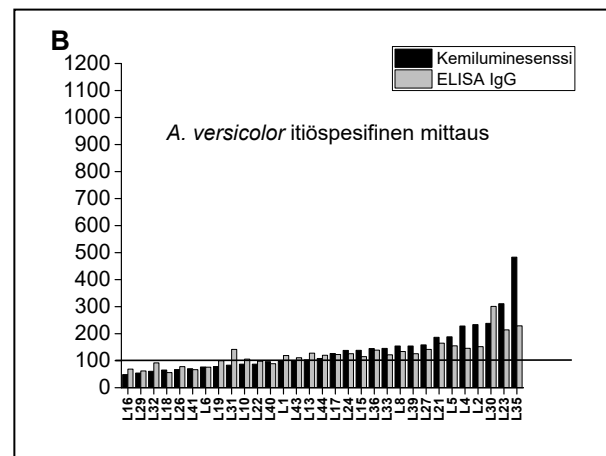
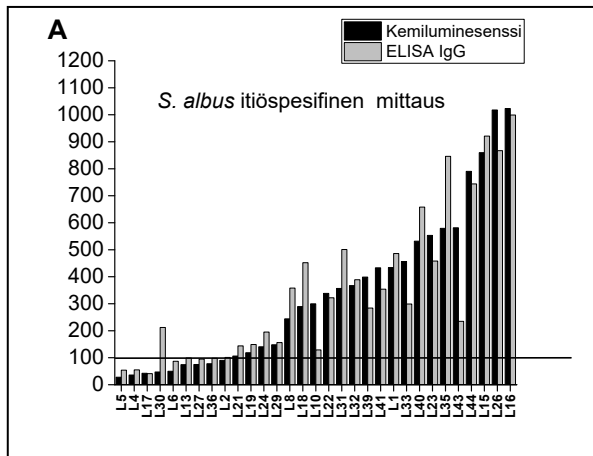
Menetelmällä havaittiin, että vasteet *S. albus*en itiöille huomattavasti korkeammalla kuin *A. versicolor*in itiöille (**kuva 7**). Testiin ei tuossa tilanteessa (kenttämittauskäynti) saatu kuin yksi referenssinäyte, joka on sama kuin edeltävän ensimmäisessä testissä oleva E näyte, eli

tilastollista merkitsevyyttä ei voi laskea. Testi kuitenkin näyttää, että altistuminen voidaan mitata käyttäen kokoverimenetelmää ja tulokset saadaan jo muutaman tunnin kuluessa näytteenotosta.



Kuva 7: Tulokset on esitetty KL-signaalin suhteellisina maksimiarvoina (30 min). Mittauksissa testiseerumikaivojen maksimiarvot on suhteutettu taustakaivon maksimiarvoon siten, että tausta (sama kuin kuvan 5 E näyte) on merkitty arvolla 100. Statistiikkalaatikko on mallia 25 %, 75 %, viiva on mediaani, viikset edustavat standardipoikkeamaa, ympyrä on keskiarvo ja rastit minimi ja maksimiarvoja.

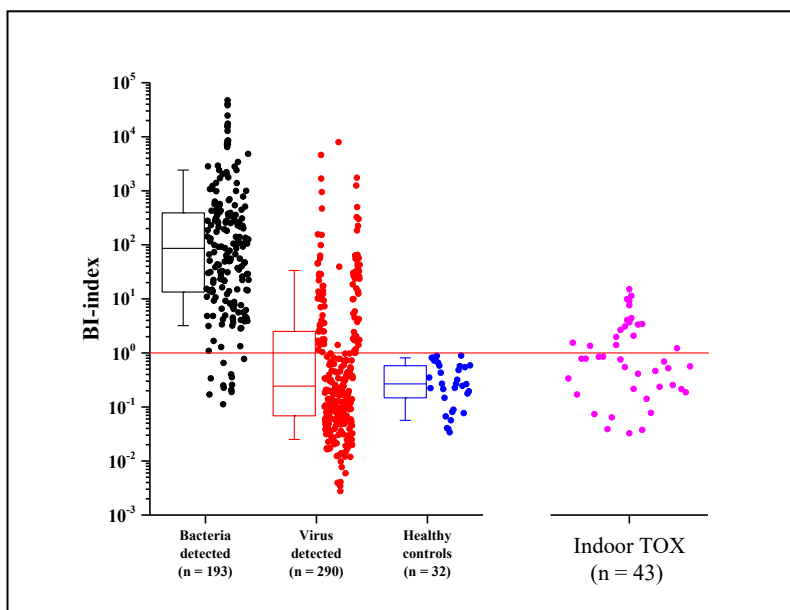
Kun menetelmällä mitattuja arvoja verrataan laboratoriossa tehtyihin itiöspesifisiin IgG tasojen ELISA –mittauksiin (**Kuva 8**), havaitaan erittäin hyvä korrelaatio kemiluminesenssin ja vasta-ainetasojen välillä.



Kuva 8: Kun kemiluminesenssi ja ELISA (itiöspesifinen IgG-mittauksien suhteellisia arvoja verrataan keskenään, huomataan että korrelaatio on hyvä. Kuvassa A mittauksissa on käytetty antigeeninä *S. albus* itiöitä ja kuvan B mittauksessa *A. versicolorin* itiöitä.

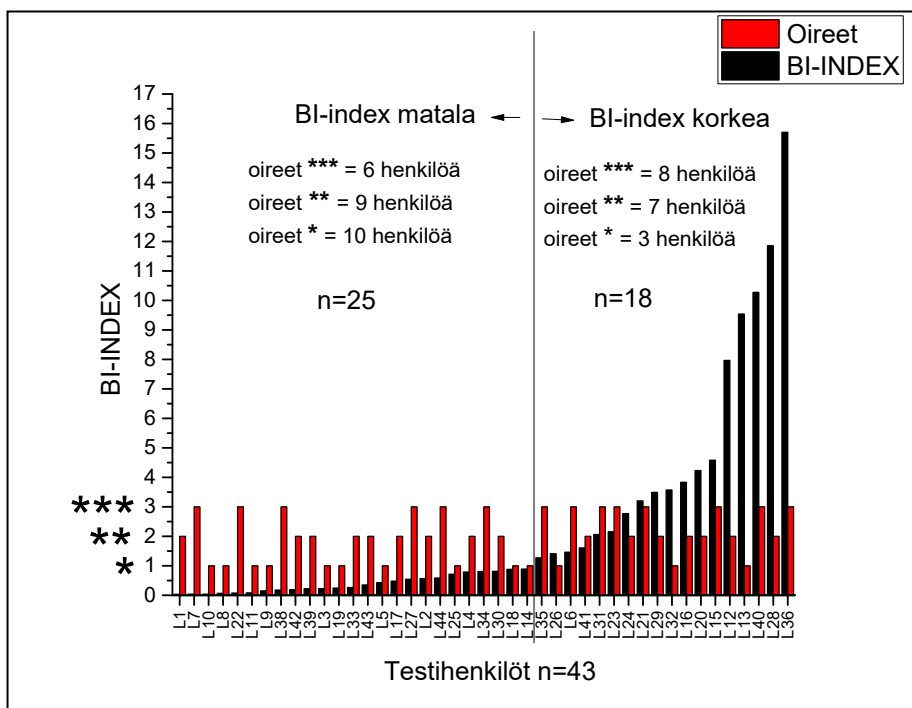
3. Valkosolujen pintareseptoreiden fenotyyppitys virtaussytometrillä

Leukosyyttipopulaatiosta (neutrofiilit, lymfosyytit) mitattiin tulehdusten ja bakteeri-infektioiden yhteydessä kohoavien pintareseptorien, kuten komplementtiresptori 1:n (CR1, CD35) ja Immunoglobuliini G:n (IgG) Fc-päähän sitoutuvan Fc-gamma-RI:n (FcγRI, CD64) ilmenemistä altistuneilla. Saaduista reseptorimittauksista laskettiin ns. bakteeri-infektio-index (BI-index), joka on voimakkaasti koholla varsinkin bakteeri-infektioissa ja lievästi koholla myös tietyissä tulehdustiloissa (**Kuva 9**) (12, 13).



Kuva 9:
Leukosyyttien pintareseptoreiden fenotyyppitys suoritettiin virtaussytometrisesti (Sysmex Cube8 virtaussytometrillä) ja saaduista reseptoriarvoista laskettiin ns. BI-indeksi arvo, joka nousee tietyissä tulehdustiloissa, lähinnä bakteeri-infektioissa (Nuutila et al. 2014 ja 2018). Kahdeksallatoista (18) testihenkilöllä 43:stä (42%) BI-indeksi oli yli raja-arvon 1 indikoiden mahdollista taustalla olevaa tulehdustilaa.

Kohonneen BI-indeksin (Nuutila ym 2013, 2014 ja 2018) omaavien koehenkilöiden varsin suuri osuus sisäilmasta kärsivien keskuudessa kertoo sisäilmaoireilun ja tulehduksellisten tilojen (inflammaation) yhteydestä. Varsinainen merkitsevyys selviää vasta suuremman aineiston myötä ja verrattaessa tuloksia muihin tehtyihin analyyseihin (dos. Jari Nuutila).



Kuva 10: Koehenkilöiden oireet jaettiin kolmeen luokkaan niiden vakavuuden mukaan. Jako on esitetty oireiluun liittyvässä **Taulukossa 1**. Ne koehenkilöt joilla oli oirekyselyn ja keuhkofunktiotestauksen yhteydessä todettu vakavimmat oireet saivat arvon ***, krooniset arkielämää haittaavat oireet saivat arvon ** ja lievemmat ärsytysoireet arvon *. Tämä jako tehtiin sokkoutetusti, ennen kuin virtaussytometrianalyysien tuloksia oli analysoitu. Kuvassa mustat palkit edustavat BI-arvoja ja punaiset palkit oireluokitusarvoja 1-3, siis *, ** ja ***.

Tulokset osoittivat (**Kuva 10**), että korkean BI-index-arvon omaavilla henkilöillä oli myös useimmin pahemmat oireet (keskimäärin $2.27 \times *$) kuin matalan BI-index-arvon omaavilla henkilöillä (keskimäärin $1.84 \times *$). Kolmannen luokituksen (***) oireita korkean BI-Indeksin arvoilla (yhteensä 18 henkilöä) oli 44 %, toisen luokan oireita (**) 39 % ja ensimmäisen luokan oireita (*) 17 %. Samat luvut matalan BI-indeksin omaavilla henkilöillä oli 24 %, 36 % ja 40 %. Tulokset ovat lupaavia, vaikka pienestä otoskoosta johtuen tilastollista eroa ei vielä havaittu ($P = 0,07$ Mann-Whitney Test).

4. Seeruminäytteiden spesifiset merkkiaineet:

Itiöspesifiset vasta-aineet (IgM, IgG, IgG1, IgG3, IgG2, IgA)

Tämän tutkimushankkeen tuloksista on julkaistu vertaisarvioitu artikkeli Science of Total Environment –lehdessä (**Atosuo ym. 2019 A**). Artikkelissa esitetään vaurioituneiden työpaikkarakennusten ja kontrollirakennusten tilankäyttäjien seeruminäytteiden tulokset uudella itiöspesifisellä ELISA-menetelmällä. Artikkelin ensimmäinen FM Outi Karhuvaaran väitöskirjan osajulkaisu.

Lisäksi samaan tutkimukseen liittyvä IgG2 alaluokkaa käsittelevä FM Outi Karhuvaaran tutkimus julkaistaan Sisäilmastoseminaarissa maaliskuussa 2020. Tässä artikkelissa kuvataan menetelmä, aineisto ja saadut merkitsevät tulokset sekä koko itiöspesifisen IgG:n että alaluokkien IgG1, IgG2 ja IgG3:n osalta. Toimimattoman vasta-aineen vuoksi IgG2 alaluokka jäi analysoimatta aikaisemmassa tutkimuksessa.

Tutkimuksessamme arvioimme kosteusvaurioituneissa rakennuksissa esiintyvien mikrobien vaikutusta vasta-ainetuotantoon kehittämämme ELISA-menetelmän avulla. Aiemmassa tutkimuksessa 159:n altistuneen henkilön aineistossa havaittiin, että mikrobialtistus johti altistumattomia kontrolleja korkeampiin *S. albus*- ja *A. versicolor*-spesifisten IgG-luokan ja sen alaluokkien IgG1- ja IgG3- vasta-ainetasoihin. Itiöspesifisissä IgA- ja IgM- luokan vasta-aineiden tasoissa ei havaittu eroja altistuneiden ja altistumattomien kontrollien välillä. Uudessa tutkimuksessamme 206:n henkilön otannalla kosteusvaurioituneissa tiloissa työskentelevillä henkilöillä havaittiin kontrolleja korkeampi taso *A. versicolor*- ja *P. expansum*- spesifisiä IgG2-luokan vasta-aineita. Immuunijärjestelmä kohtaa jatkuvasti mikrobeja ja muita antigeenejä, joiden tunnistamisesta ja tuhoamisesta vastaavat ensisijaisesti synnynnäisen immunitetin mekanismit. Vain murto-osa antigeeneistä aktivoi adaptiivisen immuunijärjestelmän, jonka keskeisinä tekijöinä ovat antigeeneihin spesifisesti sitoutuvat immunoglobuliinit (Ig). Antigeenispesifisiä vasta-aineita erittävät B-solut muodostuvat sekundaarisissa lymfaattisissa kudoksissa 1-2 viikon kuluessa primäärisestä antigeenialtistuksesta. (**Janeway ym. 2002, Owen ym. 2013, Delves ym. 2012**)

Immunoglobuliinit osallistuvat antigeenin tunnistamiseen ja tuhoamiseen kahdella tapaa: ne sitoutuvat suoraan antigeeneihin ja aktivoivat immuunijärjestelmän toiminnan kannalta välttämättömiä toimintoja (**Janeway ym. 2002**). Immunoglobuliinivasteita seuraavia reaktioita säätelevät sekä synnynnäinen että adaptiivinen immuunijärjestelmä vuorovaikutuksessa keskenään. Keskeisiä säätelijöitä ovat antigeenejä esittelevät solut (APC) ja tyypin 1 auttaja-T-solujen (Th1) ja tyypin 2 auttaja-T-solujen (Th2) erittämät sytokiinit. Selektio Th1- ja Th2-vasteen välillä riippuu antigeenin sekä APC:n ominaisuuksista ja yksilökohtaisista ominaisuuksista. (**Bretscher 2014, Magombedze ym. 2014**)

Th2-tyypin IgE-välitteiset allergiset yliherkkyyssreaktiot ja allerginen astma ovat verrattain harvinaisia kosteusvauriomikrobeille altistumisen yhteydessä (**Thacher ym. 2017**). Sen sijaan kosteusvauriot ovat yhteydessä kohonneeseen ei-allergisen astman riskiin (**Thacher ym. 2017**). Th1-välitteinen proinflammatorinen vaste on keskeinen tekijä adaptiivisessa liukoisessa ja soluvälitteisessä vasteessa mikrobeja vastaan. Th1-vasteen alkuvaiheessa tuotetaan ensin IgM:ää, ja luokanvaihdon jälkeen IgG:tä ja IgA:ta. IgG on pääefektori seerumissa, kun taas IgA:ta esiintyy ensisijaisesti limakalvoilla (**Vidarsson ym. 2014**).

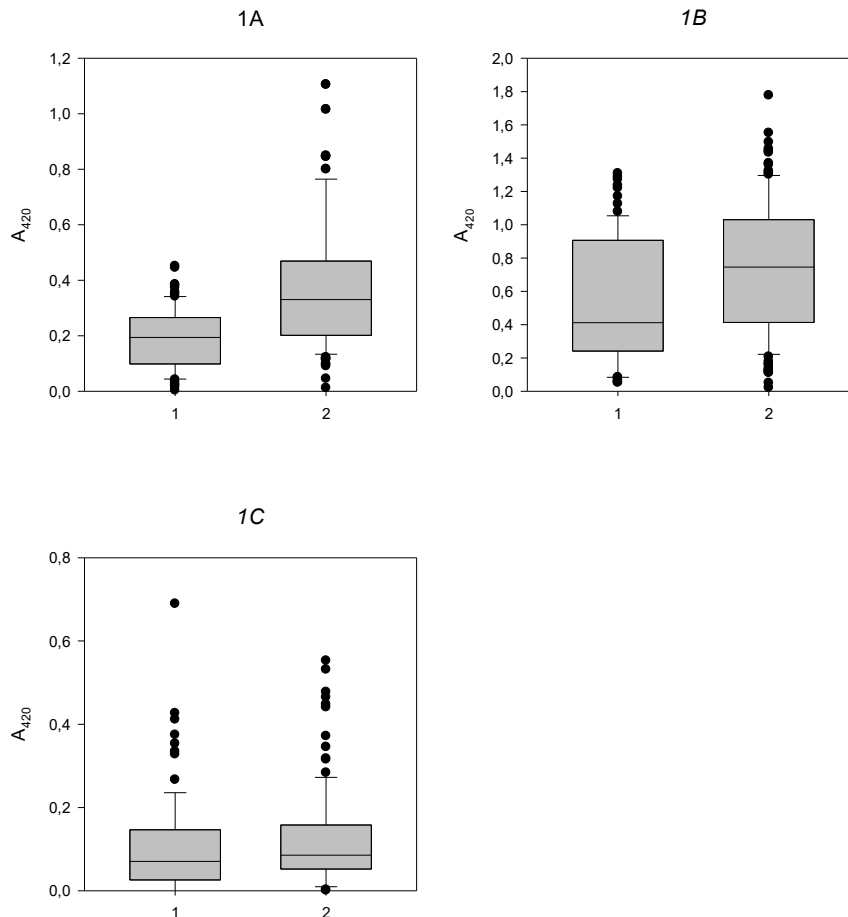
Aiemmissa tutkimuksissa olemme kehittäneet ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay)-menetelmän mittaamaan kosteusvaurioissa esiintyvien mikrobien, *S.albus* ja *A. versicolor* (Adan OCG ym 1994), itiöille spesifisiä vasta-aineita, ja havainneet kosteusvauriomikrobeille altistuneilla henkilöillä ryhmätasolla korkeampia IgG1- ja IgG3-alaluokan vasta-ainetasoja kuin altistumattomilla (**Atosuo ym. 2019 B**). Tämän tutkimuksen tavoite oli arvioida kosteusvauriomikrobialtistuksen vaikutusta mikrobien itiöille spesifisten IgG2-alaluokan vasta-ainetasoihin.

Seeruminäytteitä kerättiin vapaaehtoisilta, Länsi- ja Etelä-Suomessa mikrobivaurioituneissa rakennuksissa työskenteleviltä henkilöiltä. Vertailumateriaalina käytettiin vaurioitumattomissa tiloissa työskentelevien henkilöiden seeruminäytteitä. Seerumien keräyksessä noudatettiin samaa protokollaa kuin aiemminkin (**Atosuo ym. 2019 B**).

Mittauksessa käytettyjen itiöiden valmistus toteutettiin kuten aiemmassa tutkimuksessa (**Atosuo ym. 2019 B**). Itiöspesifisten IgG2-tasojen mittaus tehtiin aiemmin kehitettyä protokollaa käyttäen (**Atosuo ym. 2019 B**). Ensimmäisessä vaiheessa mittakaivojen pohjat pinnoitettiin itiöillä. Toisessa vaiheessa pinnoitettuja kaivoja inkuboitui 1%:n seerumin kanssa, jolloin seerumin itiöspesifiset vasta-aineet kiinnittyivät mittakaivon pohjaan tarttuneisiin itiöantigeeneihin. Kolmannessa vaiheessa itiöantigeeneihin spesifisesti kiinnittyneet seerumin IgG2-alaluokan vasta-aineet tunnistettiin sekundäärisellä, hiiressä tehdyllä HRP-leimatulla anti-human IgG2-vasta-aineella (Novus Biologicals).

Tutkimusmateriaalina oli 117 näytettä, jotka oli kerätty vaurioituneissa kohteissa työskenteleviltä. Vertailuaineistona oli 89 altistumattoman henkilön näytteet. Seerumeista mitattiin *S. albus*-, *P. expansum*- ja *A. versicolor*-spesifiset IgG2-tasot. Data oli epänormaalisti jakautunutta, joten IgG2-tasojen eron tilastollista merkitsevyyttä arvioitiin Mann-Whitneyn U-testillä.

Ero *P. expansum*- ja *A. versicolor*-spesifisissä IgG2-tasoissa oli merkitsevä kosteusvauriotiloissa työskentelevien ja referenssirakennuksissa työskentelevien välillä ($p=0,001$ ja $p<0,001$) (**kuva 11A ja 11B**). *S. albus*-spesifiset IgG2-tasot eivät altistuneilla eronneet tilastollisesti merkitsevästi altistumattomista, mutta samansuuntainen trendi oli havaittavissa ($p= 0,083$) (**kuva 11C**).



Kuva 11. Mikrobeille altistumattomien (1) ja altistuneiden (2) väliset erot *A. versicolor*- (1A), *P. expansum*- (1B) ja *S. albus*-spesifisissä (1C) seerumin IgG2-alaluokan vasta-ainetasoissa.

IgG2 alaluokkaa koskevasta tutkimuksesta on kirjoitettu artikkelikäsikirjoitus lähetettäväksi kansainväliseen vertaisarvioituun tiedelehteen ja siitä tulee osajulkaisu FM Outi Karhuvaaran väitöskirjaan.

Kosteusvauriomikrobiaaltistuksen yhteys kiertävien immuunikompleksien (iC3b, C3dg ja C3d - fraktiot) muodostumiseen.

Tutkimuksesta on lähetetty (FM Outi Karhuvaara ym.) suomenkielinen artikkeli vuoden 2020 Sisäilmastoseminaariin (**Karhuvaara ym. 2020 B**).

Kosteusvauriomikrobeille altistuminen nostaa vaurioituneiden tilojen käyttäjien IgG-vasta-ainetasoja (**Atosuo ym. 2017 B**). Vasta-ainetuotanto yhdessä mikrobiperäisen antigeenin ja immuunijärjestelmän komplementtisysteemin komponenttien kanssa johtaa immuunikompleksien syntymiseen. Immuunikompleksit ovat välttämätön osa toimivaa immuunipuolustusta, ja normaalitilassa ne poistuvat verenkierrosta muun muassa komplementtisysteemin ja punasolujen toimesta. Jatkuva altistus antigeenille ja häiriöt immuunikompleksien poistomekanismeissa voivat kuitenkin johtaa immuunikompleksien kertymiseen verenkiertoon ja kudoksiin, joka puolestaan johtaa vaurioihin näissä kudoksissa (**McDougal ym. 1985**). Jatkuva antigeenialtistus, antigeenille spesifiset vasta-aineet,

immuunikompleksit ja häiriöt komplementtisysteemin toiminnassa ovat avaintekijä useissa autoimmuunisairauksissa (Duquesnoy 1984, Fortuna ym. 2013).

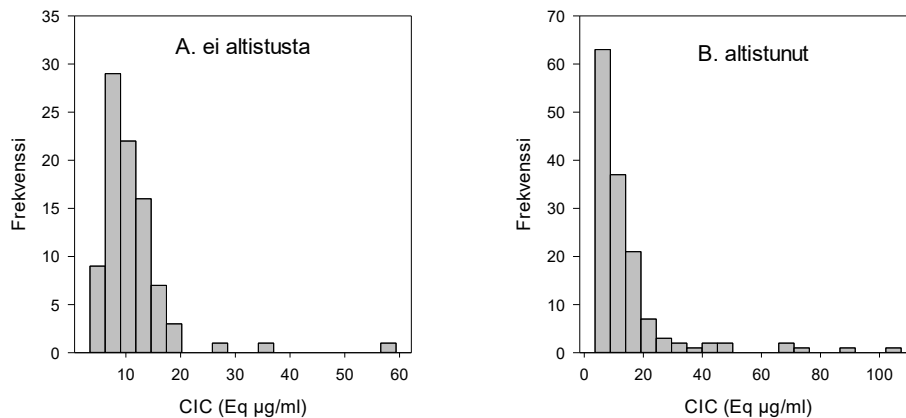
Pitkäaikainen altistuminen kosteusvauriomikrobeille johtaa immuunijärjestelmän aktivoitumisen kautta joillakin kosteusvaurioituneiden tilojen käyttäjillä immuunikompleksien kertymiseen. Tämän tutkimuksen tavoite on tutkia kosteusvauriomikrobialtistuksen yhteyttä kiertävien immuunikompleksien (CIC) määrään seerumissa.

Tutkimuskohteina oli Etelä- ja Länsi-Suomalaisia rakennuksia, joissa oli todettu kosteusvaurio ja mikrobikasvustoa. Mikrobien läsnäolo rakennuksissa on varmennettu viljelyyn perustuvalla menetelmällä Turun yliopiston aerobiologian laitoksella. Kontrolleina oli rakennuksia, joissa ei ollut todettua vaurioita eikä mikrobikasvustoa. Rakennukset olivat kouluja, terveyskeskuksia ja paloasemia. Näytteet kerättiin kaikilta rakennusten henkilökuntaan kuuluvilta halukkailta henkilöiltä eli kyseessä on ryväsotanta. Vapaaehtoisilta kosteusvauriotiloissa työskenteleviltä (n=143) ja vaurioitumattomissa tiloissa työskenteleviltä (n=89) kerättiin seeruminäytteet, joista mitattiin kiertävien immuunikompleksien (CIC) pitoisuus kaupallisella ELISA-menetelmällä (CIC-Raji Cell Replacement, Quidel). Menetelmä mittaa kiertäviin immuunikompleksiin sitoutuneita komplementin fragmentteja (iC3b, C3dg ja C3d). Kaikki kerätyt näytteet analysoitiin.

Tutkimuksessa oltiin kiinnostuneita ensisijaisesti korkeiden CIC-pitoisuuksien yleisyydestä, joten tulokset käsiteltiin luokittelemalla seerumin CIC-pitoisuus joko normaaliksi (CIC Eq mg/ml < 15) tai korkeaksi (15 < CIC Eq mg/ml). Normaalien ja korkeiden arvojen frekvenssit on mikrobialtistuneiden ja altistumattomien ryhmässä on esitetty taulukossa 6. Kosteusvauriomikrobeille altistuneiden ja altistumattomien CIC-pitoisuuksien jakaumat on esitetty kuvassa 12.

Taulukko 6: Mikrobialtistuneiden ja altistumattomien normaalien ja korkeiden arvojen frekvenssit.

	NORMAALI CIC < 15 Eq µg/ml	KORKEA CIC > 15 Eq µg/ml	Yhteensä
kosteusvauriomikrobeille altistunut	108 (75,5 %)	35 (24,5 %)	143
altistumaton	77 (86,5 %)	12 (13,5 %)	89
yhteensä	185	47	232



Kuva 12. CIC-pitoisuuksien jakaumat kosteusvauriomikrobeille altistumattomilla (A) ja altistuneilla (B).

Kosteusvauriomikrobeille altistuneilla 24,5 %:lla CIC-pitoisuus oli koholla, kun taas altistumattomilla 13,5 %:lla. Khiin neliö -testin mukaan ryhmien välinen ero on tilastollisesti merkitsevä ($\chi^2(1) = 4,103$; $p = 0,043$).

Altistumisen vaikutus sytokiinitasoihin (IL-1 β , IL-4, IL-6, TNF- α)

Sytokiinit ovat pieniä peptidimolekyyliä, joita tuottavat muun muassa epiteelisolut, neutrofiilit, lymfosyytit, makrofagit ja eosinofiilit. Sytokiineilla on tärkeä rooli sekä synnynnäisen että adaptiivisen immuunijärjestelmän toiminnassa, ja niillä on sekä tulehdusta indusoivia että tulehdusta supresseoivia vaikutuksia. Tässä projektissa mielenkiinnon kohteena ovat Tumor Necrosis Factor α (TNF- α), Interleukiini 1 β (IL-1 β), Interleukiini 6 (IL-6) ja Interleukiini 4 (IL-4).

TNF- α , IL-1 β ja IL-6 ovat tulehdusreaktiota käynnistäviä ja sääteleviä sytokiineja. IL-1 β ja TNF- α säätelevät muun muassa leukosyyttien siirtymistä verenkierrosta kudoksiin. IL-6 puolestaan on akuutin faasin proteiinien synteesiä ja B-solujen immunoglobuliinituotantoa stimuloiva sytokiini. IL-4 liittyy ensisijaisesti allergisiin reaktioihin, ja indusoi Th2-solujen erilaistumista sekä stimuloi B-solujen IgE-tuotantoa (Delves ym. 2012). Seerumista mitattiin IL-6-, IL-4, IL-1 β - ja TNF- α -tasoja kaupallisilla ELISA-menetelmillä (IBL, Hampuri, Saksa). Absorbanssi mitattiin Hidex Sense-levynlukijalla. Seerumin sytokiinipitoisuuksien mediaanit ja maksimi-arvot on esitetty taulukossa 7.

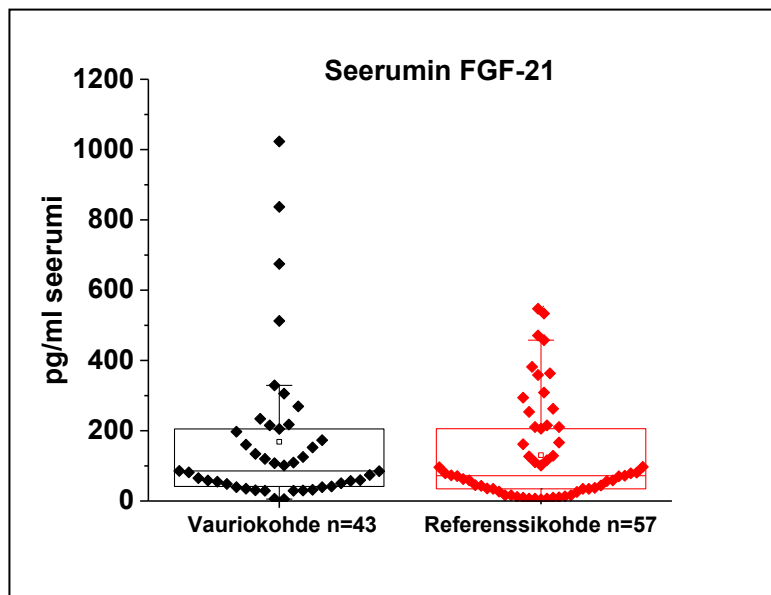
Taulukko 7: Koehenkilöiden seerumin sytokiinitasot.

	n	mediaani (pg/ml)	max (pg/ml)
IL-6	170	5,67	189,91
IL-4	117	6,22	1200
TNF α	24	0	255
IL-1 β	75	9,65	440

IL-6 ja IL-4 tasoja vertailtiin kosteusvaurioille altistuneiden ja altistumattomien välillä, ryhmien välillä ei ollut eroja. Mann-Whitneyn U-testin merkitsevyys: IL-6: 0,154 IL-4: 0,068. TNF- α - ja IL-1 β -tasoa ei ole mitattu vielä riittävän laajalla otannalla, jotta altistuneiden ja altistumattomien ryhmiä olisi voitu vertailla.

Altistumisen vaikutus FGF-21 tasoon

Altistuneiden henkilöiden (n=43 Terveyskeskusrakennus Itä-Suomi, Materiaali I) ja ei altistuneiden (n=57) koulurakennus Etelä-Suomi, Materiaali I) seerumeista mitattiin FGF-21 (Fibroblast Growth Factor 21) -tasoa kaupallisella ELISA-kitillä (Biovendor, Brno, Tsekki) (**Kuva 13**). Aikaisemmassa tutkimuksessa (TSR hanke 114168) todettiin kohonneiden FGF-21 arvojen korreloivan vauriokohteiden tilankäyttäjien oireilun ja mitokondriovaurioiden kanssa.



Kuva 13: FGF-21 ELISA mittaukset työntekijöiden seeruminäytteistä.

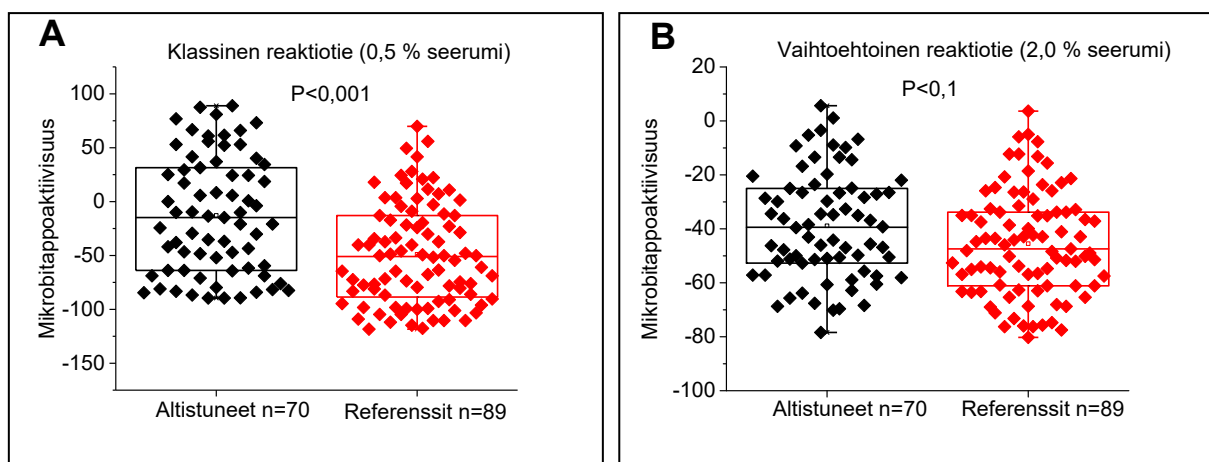
Saaduissa tuloksissa ei ollut tilastollisesti merkitseviä eroja vauriokohteiden ja referenssikohhteiden koehenkilöiden välillä. Vauriokohteesta mitattiin kuitenkin korkeimmat pitoisuudet (12).

Altistumisen vaikutus seerumin komplementtisysteemin aktiivisuuteen

Komplementtisysteemin aktivaation mittaamiseen käytetään funktionaalista menetelmää, jossa analysoidaan tietyn kriittisen seerumipitoisuuden (klassinen 0,5 % ja vaihtoehtoinen 2 %) kyky tappaa koetinbakteereita (**Kilpi ym. 2009, Atosuo ym. 2012**). Klassinen reaktiotie tarkoittaa tässä kaikkia kolmea reaktiotietä, mutta koska klassinen on toimiessaan pääasiallisesti vaikuttaja, käytetään tässä yhteydessä termiä klassinen reaktiotie. Klassisen reaktiotien aktivaatioon kuuluu aina myös vaihtoehtoisen reaktiotien toiminta, eli klassista tai lektiinireaktiotietä ei ainoana reaktiona toiminnallisesti ole olemassa.

Vaihtoehtoinen reaktiotie saadaan näkyviin, kun seerumi käsitellään EGTA:lla, joka gelatoi seerumista vapaat Ca^{2+} ionit, jolloin klassinen- ja lektiinireaktiotie inhiboituu (Kilpi ym. 2009, Atosuo ym. 2012).

Koettimena käytetään bioluminesoivaa *E. coli*-lux (10^5 solua) bakteerikantaa, jota käytettiin myös toksisuusmittauksissa koetinbakteereina (Kilpi ym. 2009, Atosuo ym. 2012). Tulokset on luettu 180 minuutin inkubaation jälkeen ja tappo on ilmoitettu siten, että referenssikaivosta saatu tulos, eli elävät bakteerit on merkitty 0 % tapoksi (Kuva 14). Vastaavasti jos kaikki testikaivon kaivon bakteerit ovat kuolleet, arvo on 100 %. Kriittinen seerumimäärä tarkoittaa sitä, että tällä pitoisuudella näytteessä olevat anomaliat saadaan esille. esim. klassisen reaktiotien tulosten osalta korkea-aktiivisin näyte on tappanut 80 % mittauskaivon bakteereista, kun taas matala-aktiivisin on mahdollistanut *E. coli*-lux bakteerikannan solujen lisääntymisen kaivossa, eli tappo on negatiivinen. Menetelmää on käytetty ihmisten, lepakoiden ja kalojen seerumiaktiivisuuksien mittaamiseen (Kilpi ym. 2009, Lilley ym. 2013)



Kuva 14: Klassisen reaktiotien (A) ja vaihtoehtoisen reaktiotien (B) mikrobitappoaktiivisuudet. Tulokset ovat kahden mittauskaivon keskiarvoja. Statistiikkalaatikko on mallia 25 %, 75 %, viiva on mediaani, viikset edustavat standardipoikkeamaa, ympyrä on keskiarvo ja rastit minimi ja maksimi-arvoja. Epälineaarisen jakauman vuoksi p-arvot määritettiin käyttäen Mann-Whitneyn U-testiä.

Näytteet on tehty samojen kohteiden tilankäyttäjien seeruminäytteistä kuin julkaistun itiöspesifisten vasta-aineita mittaavan ELISA menetelmän yhteydessä, eli vauriokohteista on 70 henkilön seerumit ja referenssirakennuksista 89 työntekijän näytteet (Atosuo ym. 2019 B). Vauriokohteiden työntekijöillä oli merkitsevästi kohonnut itiöspesifiset IgG-arvot verrattuna referenssikohteiden työntekijöiden seeruminäytteisiin. Klassinen reaktiotie käynnistyy vasta-aineiden ja varsinkin IgG-luokan vasta-aineiden, aktivoimana (Owen ym. 2013). Vauriokohteiden altistuneiden seerumista havaittiin merkitsevästi kohonnut klassisen reaktiotien vasteet verrattuna referenssikohteista kerättyihin näytteisiin. Myös vaihtoehtoisen reaktiotien aktiivisuudessa vauriokohteiden arvot olivat korkeammalla.

Myös TSR:n hankkeessa 116050 havaittiin ryhmätasolla nousseita komplementtiaktiivisuuksia vauriorakennusten tilankäyttäjillä.

Sisäilman toksisuusmittaukset

E. coli-lux- testi:

Työskentelytiloista kerättyjen yläpölynäytteiden (Täubel ym. 2001) kokonaistoksisuutta mitattiin *E. coli-lux* testillä. Testi perustuu *E. coli-lux* bakteereiden tuottamaan bioluminesenssiin, joka heikkenee toksiinialistuksessa (Atosuo ym. 2012, Atosuo vk 2015).

Toksisuusmittaukset tehtiin laboratoriossa sokkoutetusti tietämättä rakenneteknisestä- tai oiredatasta. Tiedostot yhdistettiin vasta analyysivaiheessa.

Näytteet kerättiin laboratoriomme tarkoitukseen valmistamalla tikuilla polyeteeniputkiin (Atosuo vk 2015), pyyhintäpölynäytteinä tutkimuskohteen sisätilojen pinnoilta. Jokaisesta huoneesta kerättiin näytteitä kolmesta eri kohdasta, jokaisesta kaksi putkea, siis vähintään kuusi pölynäytettä/huone. Näytteet analysoitiin yksikön omassa laboratoriossa Turun yliopiston Biokemian laitoksen immunokemian laboratoriossa.

Laboratoriossa näytteet punnittiin. Samasta kohdasta otetun näyteparin toinen putki uutettiin veteen (H₂O) ja toinen dimetyylisulfoksidiin (DMSO). Näin näytteestä saatiin tutkittua sekä mahdolliset vesiliukoiset että orgaaniseen liuottimeen liukenevat toksiinit. Uutetuista näytteistä tehtiin laimennossarja mikrokuoppalevyille. Tämän jälkeen joukkoon pipetoitiin koettimena käyttämäämme bakteeria, *E. coli-luxia* (Atosuo ym. 2012).

Toksisuusmittaus perustuu *E. coli-lux* - solujen mahdollisesta kuolemista johtuvaan bioluminesenssisignaalin laskuun, joka on suoraan verrannollinen kuolleiden solujen määrään (8) . Mittaamme bakteerisolujen bioluminesenssisignaalia kahden tunnin ajan, minkä jälkeen vertaamme näytelaimennoksille altistettujen bakteerien signaalia vertailunäytteeseen, joka ei sisällä pölyuutetta. EC₅₀-arvo on se uutoksen pitoisuus liuoksessa, joka tappaa 50 % soluista 120 minuutissa. Täten, mitä pienempi lukuarvo on, sitä myrkyllisempää pöly on. Menetelmä mittaa kokonaistoksisuutta, siis mikrobitoroksiinien lisäksi myös muita toksisia yhdisteitä pölyssä. Positiivisena kontrollina testeissä on käytetty polymyksiini B:tä (Atosuo vk 2015). Tulokset luokitellaan EC₅₀-arvon perusteella neljään eri toksisuusluokkaan. Luokittelu perustuu aiemmin laboratoriossamme määritettyjen vauriokohteiden ja puhtaiden kohteiden pölynäytteiden tulosten vertailuun.

Toksisuusluokat pölyn massan suhteen:

- I EC₅₀ < 25 µg/ml Erittäin toksinen
- II EC₅₀ = 25 – 100 µg/ml Toksinen
- III EC₅₀ = 100 – 250 µg/ml Tullinnanvarainen
- IV EC₅₀ > 250 µg/ml Ei toksinen

Rakennuksia tutkittaessa tulokset analysoidaan yksilöllisesti, koska kahta samanlaista rakennusta ei ole. Mittaus ja analyysi tehdään huonekohtaisesti. Jos näytteistä on toksisia 10 – 15 %, se indikoi rakennuksessa olevaa sisäilmaongelmaa ja silloin tehdään lisätutkimuksia. Jos näytteistä on toksisia tai erittäin toksisia noin 15 % tai enemmän, se indikoi merkitsevää sisäilmahaittaa. Tällöin tehdään lisätutkimuksia, esim. mikrobikasvatusten ja rakennusteknisten tutkimusten muodossa.

Toksisuusmittausta, kuten ei muitakaan menetelmiä, ei koskaan yksin käytetä ainoana menetelmänä vaurioiden todentamiseen, vaan rakennuksiin tulee tehdä rakennetekninen kuntotutkimus ja ottaa tarvittavat kemialliset ja mikrobiologiset näytteet.

Menetelmästä valmistellaan artikkelikäsikirjoitusta ”Assessing the Acute and Delayed Effects of Antimicrobial agents Using Bioluminescent *E. coli-lux*” lähetettäväksi kansainväliseen vertaisarvioituun tiedelehteen. Artikkelin on FM Eetu Suomisen väitöskirjan osatyö.

Materiaali I:

Vauriokohteet

- TK-rakennus Itä-Suomessa, 109 näytettä. Rakennuksen näytteistä 14 % oli toksisia
- Kerrostalo Etelä-Suomi, 122 näytettä. Rakennuksesta löydettiin merkitsevästi toksisia näytteitä (> 15 %)
- Etelä-Suomalaisen paloaseman A miehistön asunto- ja ruokailutilat, 48 näytettä. Rakennuksesta löydettiin merkitsevästi toksisia näytteitä (> 15 %)

Referenssikohteet (ei todettuja mikrobivaurioita)

- Etelä-Suomalaisen paloaseman B miehistön asunto- ja ruokailutilat, 62 näytettä. Ei toksisia näytteitä
- Etelä-Suomalaisen paloaseman C miehistön asunto- ja ruokailutilat, 50 näytettä, joista 2 toksisia (4 %).
- Etelä-Suomalaisen paloaseman D miehistön asunto- ja ruokailutilat, 32 näytettä, joista 2 toksista (6 %).
- Etelä-Suomalainen koulurakennus, 74 näytettä, joista 3 toksista (4 %).

Materiaali II pitkäaikaissurantakohde (seuranta kesken)

Eteläsuomalainen koulu, vauriokohde, jonka henkilökunta siirtyi väistötiloihin vuoden 2019-20 vaihteessa.

- Marraskuu 2018: 1. käynti, vanha vaurioitunut koulurakennus, 92 näytettä, Rakennuksesta löydettiin merkitsevästi toksisia näytteitä (> 15 %) merkitsevästi toksisia pölynäytteitä.
- Maaliskuu 2019: 2. käynti, koulutyö siirtynyt uusiin väistötiloihin, 74 näytettä, joista 5 toksista (7 %).
- Marraskuu 2019: 3. käynti, uusi lukukausi väistötiloissa, 74 näytettä, joista 2 toksista (3 %).

Materiaalista tehty itiöspesifiset vasta-ainetutkimukset, neutrofiilien *in vivo* –testi, seerumin kiertävät immuunikompleksianalyysit, interleukiinitestejä ja FGF-21-analyysit.

Materiaalin keräys seurantakohteessa jatkuu, kunnes tutkittavat ovat siirtyneet takaisin korjattuun rakennukseen ja nähdään korjausten hyöty.

Materiaali III seeruminäytteet, kokoverinäytteet

- Etelä-Suomalainen yliopisto, laitosrakennus 1, vauriokohde, 48 näytettä joista toksisia 15 %.
- Etelä-Suomalainen yliopisto, laitosrakennus 2, referenssikohde, 50 näytettä joista 3 toksista (6 %).

Materiaali IV seeruminäytteet, pitkäaikaissurantakohde (seuranta alkanut joulukuussa 2019):

Etelä-Suomalainen koulu, vauriokohde, jossa koulutyö edelleen jatkui, 61 näytettä, joista merkitsevästi erittäin toksisia pölynäytteitä 28 %

Materiaali V

Testihenkilöille annettiin käynnin yhteydessä toksisuusnäytekeräysvälineet kodin, eli kolmen huoneen testaamiseen. Näitä tuloksia ei raportoida hankkeen loppuraportissa.

Yhteensä materiaalien I, II, III ja IV yhteydessä on analysoitu 896 näytettä.

Neutrofiilit ihmissolukoettimena

Referenssikoettimena (ihmissolukoetin) testattiin neutrofiilejä (**Vilén ym. 2017, Lilius ym. 2006**), joita inkuboitin pölyuutteen kanssa. CL signaalin väheneminen on suoraan verrannollinen pölyuutteen toksisuuteen. Menetelmä havainnoi hyvin varsinkin mitokondriomyrkkyjä (**Vilén ym. 2017**).

Menetelmää kokeiltiin Itä-Suomalaisen TK-rakennuksen näytteiden kanssa, joista valittiin 20 toksista näytettä. Tutkimuksessa pölyjen uutosnesteet täytyi suodattaa, koska neutrofiilit helposti aktivoituvat partikkeleiden läsnä ollessa. Näytteistä 13 (65 %) osoittautui myös nisäkässoluille toksiseksi ja laski kemiluminesenssisignaalia merkitsevästi. Menetelmää ei sovelleta rutiinitoksisuusmittauksiin, mutta sillä voidaan testata erillisiä näytteitä, joiden mahdollisesta toksisuudesta halutaan soveltavaa tietoa.

Sukkulamatomenetelmä (*Caenorhabditis elegans*)

Osa pölynäytteistä tutkittiin Turun yliopiston Biologian laitoksen (dos. Päivi Koskisen ryhmä) kehittämän sukkulamatomenetelmän (*Caenorhabditis elegans*) kanssa. Siirtogeeninen mato tuottaa toksisen näytteen läsnä ollessa fluoresenssisignaalia. Turun yliopisto on ottanut tutkimuksesta jätetyn keksintöilmoituksen vastaan ja pidättää projektiin kaikki oikeudet. Tämä tarkoittaa sitä, ettei hankkeella ole oikeuksia julkista sukkulamadoilla tehtyä *E. coli*-lux mittausten referenssidataa.

Tähän tutkimukseen ei käytetty Työsuojelurahaston rahoitusta!

Pölynäytteistä ei myöskään pystytty analysoimaan pölypunkkituloksia (punkkien aineenvaihduntaentsyymit)

Aikaisemmissa tutkimuksissa vain 5 %:lla on ollut punkkiallergia ja analyysin analyysien teosta päätettiin luopua ja keskittyä immunologisiin ja toksigologisiin vastemittauksiin.

Mikrobianalyysit

Kaikkien tutkimuksessa olevien rakennusten (materiaalit I-V) materiaalinäytteistä analysoitiin mikrobilajit ja -suvut STM:n hyväksymillä viljelymenetelmillä Turun yliopiston Aerobiologian Rakennusmikrobiologian yksikössä.

5. Pohdinta ja johtopäätökset

Pohdintoja tutkimuksista ja menetelmistä

Suomalainen sisäilmatutkimus on kolmen viime vuosikymmenen aikana keskittynyt pääasiassa kosteus- ja mikrobivaurioiden tutkimiseen epidemiologian keinoin. Terveyshaittojen mekanismeja on tutkittu selvästi vähemmän ja erityisesti helppojen, toistettavien ja validoitujen diagnostisten potilastutkimusmenetelmien kehittämiselle on suuri tarve.

Koska altistavia tekijöitä on useita ja myös terveyshaittoja ilmenee monen eri elinryhmän alueelta, tulee ongelmakenttää lähestyä samoin kuin aikanaan tupakansavun terveyshaittojen tutkimuksessa. Tulee pyrkiä altistumisen kokonaisvaltaiseen vähentämiseen, vaikkei kaikkien altistumisen osakomponenttien vaikutusmekanismeja vielä yksityiskohtaisesti tunneta. Sisäilman epäpuhtauksien terveyshaittoista on vallinnut yksimielisyys jo kahden vuosikymmenen ajan (**Nevalainen ym. 2002**). Samoin väestön suojelemiseen ja terveyshaittojen ennalta ehkäisyyn velvoittavat myös Suomen lainsäädäntö ja viranomaisohjeet (www.finlex.fi, **työturvallisuuslaki- ja asetus, terveydensuojelulaki ja -asetus sekä peruskoululaki**).

Sisäilma-altisteiden vuoksi sairastuneilta puuttuu edelleen toimivat hoitopolut, erikoisklinikat, tutkitut hoitomenetelmät, kuntoutus, oikeusturva ja lakisääteiset etuudet. Jotta oikeisiin hoitotoimiin päästään, tulee vaikutusmekanismit tuntea riittävästi.

Oireilu

Sisäilmaoireilua tutkitaan useimmiten oirekyselyjen avulla. Tarkoitukseen on kehitetty validoituja kyselylomakkeita, joita voidaan käyttää joko paperiversioina tai sähköisinä oirekyselylinkkeinä. Oirelomakkeet on kehitetty yhdessä johtavien tutkimuslaitosten ja yliopistojen yleistönä (**Susitaival ym. 1996, Andersson 2013**) ja oppilaskyselyjen lomakkeet on validoitu aikaisempien väitöstutkimusten yhteydessä (**Savilahti vk 2009**).

Viime vuosina THL on kuitenkin käyttänyt uutta oirelomaketta, jolle ei ole viitearvoja ja jota ei ole validoitu. TTL:n MM-40-lomake on uudistettu viimeksi noin 10 vuotta sitten eikä sitäkään ole validoitu suomalaisilla aineistoilla. TTL:n käyttämä vertailuaineisto sisältää myös vauriokohteita.

Turun yliopisto käyttää Tuohilampi-lomakkeistoon perustuvaa oirelomaketta, joka sisältää Ruotsissa kehitetyn Örebro-lomakkeen. Turun yliopistolla on omat vertailuviitearvot vaurioitumattomista rakennuksista eri ammattiryhmille.

Oirekyselyyn perustuvien tutkimusten mukaan on jo 1990-luvulla havaittu, että sisäilmaongelmaisissa rakennuksissa oireita ilmenee usean elinjärjestelmän alueelta. Tavanomaisissa kohteissa esiintyy hengitysteiden, ihon ja silmien ärsytysoireita, jotka usein, varsinkin altistumisen alkuvaiheessa ovat lyhytaikaisia ja palautuvia. Altistumisen pitkittyessä oireisto kroonistuu ja yleisoireita ilmenee yhä enemmän (**Majvik I ja II-suositukset**). Altistumisen jatkuessa infektiosairaudet yleistyvät ja terveyshaitat voivat kuitenkin kroonistua, muuttua vakaviksi ja työkykyä uhkaaviksi. Osa syntyvistä sairauksista on pysyviä, kuten astma ja muut yliherkkyyssairaudet (**Johanning ym. 2014**). Työterveyslaitoksen ja THL:n tutkimusten mukaan esimerkiksi astmaan sairastumisen riskin on todettu olevan jopa yli nelinkertainen pitkittyneessä altistuksessa (**Karvala ym. 2011, Karvala vk 2002**). Lapsilla vastaava riski on lähes nelinkertainen (**Pekkanen ym 2007**). Vaikka sisäilman epäpuhtauksille on olemassa erilaisia viitearvoja, käytännössä ne eivät ota kuitenkaan huomioon sisäilman epäpuhtauksien yhteisvaikutuksia eivätkä yksilöiden herkkyyttä ja eikä niitä ole asetettu

terveysperusteisesti (**Asumisterveysopas 2009**). Toimenpideohjearvoja ei siis voida yksinään käyttää terveysvaikutusten arvioinnissa. Siksi kansainväliset asiantuntijat suosittelevatkin altistuksien välttämistä tai vähintäänkin minimointia (**Johanning ym. 2014, WHO 2009**).

Kouluja jo pitkään vaivanneiden sisäilmaongelmien myötä on jouduttu hakemaan erilaisia ratkaisuja, joiden avulla pystytään takaamaan terveellinen ja turvallisen työympäristö niin henkilökunnalle kuin oppilaillekin. Useilla paikkakunnilla koulut ovatkin siirtyneet väistötiloihin työskentelemään korjausten tai uuden koulurakennuksen rakentamisvaiheen ajaksi. Väistötiloihin koulut siirtyvät usein viimeisessä hädässä, kun pienet remontit, tiivistys- ja kunnostustyöt eivät ole tuottaneet riittävää tulosta ja valtaosa henkilöstöstä ja opiskelijoista oireilee. Sisäilmaongelmat ovat usein jo siinä vaiheessa aiheuttaneet suuria ja pysyviä, sekä suoria että välillisiä kustannuksia, kuten poissaoloja, sairauskuluja, työtehon laskua sekä kiinteistön korjauskuluja (**Reijula ym. 2012**). Mahdollisimman varhainen tehokas puuttuminen sisäilmaongelmiin pitkällä aikavälillä olisi taloudellisestikin kannattavampaa (**Nguyen ym. 1998, Nevalainen ym. 2002, Reijula ym. 2012**).

Remonttien onnistumisista sekä niiden vaikutuksista koettuun sisäilmaan ja oireiluun on aiemmin tehty useita tutkimuksia sekä opettajille että oppilaille ja niiden perusteella voidaan todeta, että koulurakennuksen kosteusvaurioiden korjaamisella on myönteisiä vaikutuksia rakennuksen käyttäjien terveyteen, mikä on nähtävissä mm. yleisoireiden ja hengitystieinfektioiden määrän laskuna (**Savilahti ym. 2000, Haverinen-Shaughnessy ym. 2004, Haverinen vk 2002, Immonen ym. 2004, Patovirta ym. 2004, Lignell ym. 2007, Meklin ym. 2007, Sauni, 2013**). Vaikka altistumisen aiheuttamat oireet näyttävätkin olevan valtaosin palautuvia (**Johanning ym. 2014, Patovirta ym. 2004**), voi tilanteen normalisoitumiseen remontin jälkeen voi mennä jopa vuosia (**Haverinen-Shaughnessy ym. 2004, Meklin ym. 2007**). Pitkittynyttä oireilua aiemmissa tapauksissa on selittänyt kuitenkin mm. remontin jälkeinen pöly tiloissa sekä ilmanvaihtokanavissa ja irtaimistossa oleva mikrobiperäinen pöly (**Johanning ym. 2014, Meklin ym. 2007**). Lisäksi vielä, remonteissa käytetyistä rakennusmateriaaleista ja pintakäsittelyaineista haihtuvien orgaanisten yhdisteiden (VOC) päästöt ovat kaikkein korkeimmillaan juuri uusina ja ne voivat myös aiheuttaa erilaisia oireita, kuten ärsytysoireita tai jopa astmaa (**Zhou ym. 2011, Herbarth ym. 2010, Holøs ym. 2018**). Edellä mainittujen tekijöiden vuoksi suoraa vertailua aiempiin korjauksia edeltävään tilanteeseen ei siis voida tehdä pelkästään oirekuvan perusteella. Tulokset aiemmissa tutkimuksissa ovat kuitenkin hyvin samansuuntaisia. Väistötilaan siirtymisen terveysvaikutuksista on julkaistu lasten terveydentilaa koskevia tuloksia (**Koskinen ym. 1999, Meklin ym. 2007, Lignell ym. 2007**) ja opettajista (**Patovirta vk 2005**). Purokivi on väitöskirjassaan (**Purokivi vk 2002**) osoittanut inflammaatiovasteiden erot opettajien kesäloman ja koulutyön aikana vaurioituneissa kouluissa. Rautialan väitöskirja-aineistossa (**Rautiala vk 2004**) havaittiin purkutyötä tekevillä rakennusmiehillä keuhkofunktion ja homevasta-ainetasojen muutoksia jo muutaman viikon työskentelyn jälkeen.

Nyt tarkasteltava tutkimusaineisto on ensimmäinen, jossa homekoulun opettajien keuhkofunktioita on seurattu useamman kerran vauriorakennuksesta väistötiloihin siirtymisen jälkeen. Kyseessä on pilottikohde ja seuranta edelleen jatkuu. Seurantaa on tarkoitus jatkaa, kunnes opettajat ovat olleet pitkähkön ajan korjatussa rakennuksessa.

Kaikissa seurantatutkimuksissa ongelmana on tutkimuksen keskeyttäneet tai työelämästä eläkeiän vuoksi pois jääneet. Tämä ongelma korostuu erityisesti näin pienessä aineistossa. Vaikka tämän tutkimuksen II-vaiheeseen osallistui 71 % ja III-vaiheeseen vain 62 % alkuperäisestä osallistujamäärästä, oireellisten suhteelliset määrät (tutkittavien ryhmät, joilla

on vakavia oireita / vs. kroonisesti oireilevat / vs. ärsytys- ja yleisoireilevat / vs. ei oireita) ovat säilyneet seurannassa kohtuullisen hyvin ja näin ollen tuloksia voidaan pitää melko luotettavina.

Vaikka väistötiloihin siirtymistä pidetäänkin usein liian hankalana ja kalliina ratkaisuna, ovat väistön terveyshyödyt tämänkin tapaustutkimuksen mukaan kuitenkin huomattavat; jo suhteellisen lyhyellä aikavälillä koulun henkilökunnan siirtyminen puhtaisiin väistötiloihin on vaikuttanut merkittävästi sekä koettuun että mitattuun terveyteen. Tulokset olivat samansuuntaisia mm. Patovirran väitöstutkimuksessa. Kolmen kuukauden aikana 82 %:lla oireet olivat lievittyneet tai hävinneet ja puolen vuoden kuluttua ensimmäisestä kontrollimittauksesta, 93 % vastaajista koki olevansa täysin oireettomia sisäilman suhteen. Myös suoritettut keuhkofunktio mittaukset tukivat löydöksiä. Tämän yksittäisen tapaustutkimuksen pohjalta ei voida kuitenkaan vielä vetää mitään vahvoja yleistyksiä, vaan tarvitaan lisää laajempia tutkimuksia. Löydöstämme tukevat kuitenkin Patovirran tutkimuksessa havaitut muutokset astmaa sairastamattomien opettajien PEF-seurannoissa, samoin kuin Rautialan aineiston rakennusmiesten keuhkofunktioiden ja PEF-arvojen muutoksen altistuspäivinä vapaapäiviin verrattuna (**Patovirta ym. 2007 ja Rautiala vk 2004**). Samansuuntaisia tuloksia on saatu mm. Vantaan kaupungin teettämissä ilmanpuhdistintutkimuksissa (**Putus 2015**).

Tässä raportissa esitetään seurantatutkimus Etelä-Suomalaisesta suuresta koulurakennuksesta, jossa pitkään jatkuneet sisäilmaongelmat johtivat koulun siirtymiseen väistötiloihin. Tutkimus on osa TtM Liisa Vilénin väitöskirjaa ja josta hän on myös kirjoittanut suomenkielisen artikkelin vuoden 2020 Sisäilmastoseminaariin. Tapaustutkimuksen tarkoituksena oli selvittää, millä tavalla puhtaampiin väistötiloihin siirtyminen vaikuttaa koulun henkilökunnan sekä koettuun että tutkittuun terveydentilaan. Seurantatutkimukseen kutsuttiin koko koulun henkilökunta, osallistujat haastateltiin, sekä mitattiin keuhkojen toimintakokeet ennen väistötiloihin siirtymistä, uudelleen kolme kuukautta väistötiloihin siirtymisen jälkeen ja vielä vuoden kuluttua ensimmäisestä tutkimuksesta. Väistötilaan siirtymisen terveyshyödyt ovat tämän tutkimuksen tulosten mukaan merkittävät; jo suhteellisen lyhyellä aikavälillä koulun henkilökunnan siirtyminen puhtaisiin tiloihin on vaikuttanut merkittävästi sekä koettuun että mitattuun terveydentilaan.

Vaikka sisäilmaongelmat pääsääntöisesti liitetäänkin home- ja kosteusvaurioihin, sisäilmaongelmat ovat kokonaisuudessaan huomattavasti laajempi käsite; kosteus- ja homevaurioiden vaurioiden lisäksi sisäilman laatua heikentävät puutteellinen ilmanvaihto, epämuukavat lämpöolosuhteet, materiaaliemissiot ja pölyisyys. Valtaosa ongelmista on seurausta kiinteistöjen kunnossapidon puutteista ja viivästyneistä korjauksista (**Crook ym. 2010, Singh ym. 2010, Othman 2015**).

Terveys- ja viihtyvyshaittoja aiheuttavia sisäilmaongelmat ovat yleisiä Suomen kouluissa; Turun yliopiston ja opetusalan ammattijärjestö OAJ:n tutkimuksen mukaan jopa yli puolet opettajista kokee viikoittain tai päivittäin haittaa tunkkaisuudesta ja riittämättömästä ilmanvaihdesta ja viidennes homeen, maakellarin tai viemärin hajusta (**Putus ym. 2017**). Kosteus- ja homevaurioiden määrästä koulurakennuksissa on tehty tällä vuosikymmenellä monia arvioita ja ne vaihtelevat varsin suuresti: 12-18 %:sta (**Reijula ym. 2012, Soimakallio ym. 2017**) aina Suomen Rakennusinsinöörien liiton 70 %:iin koulujen rakennuskannasta (**RIL 250-2011 2011**).

Sisäilmaongelmaisissa rakennuksissa esiintyy yleensä aluksi lähinnä viihtyvyys- ja hajuhaittoja, jotka voivat aiheuttaa erilaisia epäspesifisiä ärsytysoireita, kuten ihon ja silmien ärsytystä, nuhaa, yskää, käheyttä ja/tai ihottumaa sekä yleisoireita kuten kuumeilua, väsymystä ja/tai päänsärkyä. Alkuvaiheessa oireiden yhteys vaurioituneeseen rakennukseen on usein selvä; oireet häviävät pian rakennuksesta poistumisen jälkeen. Altistuksen jatkuessa, terveydentilan palautuminen rakennuksesta poistumisen jälkeen voi kestää pitkäänkin tai oireet voivat jäädä pysyviksi. Tällaisia oireita ovat mm. allerginen nuha, infektiosairaudet, kuten usein toistuvat flunssat ja krooniset poskiontelotulehdukset, akuutit ja krooniset bronkiitit. Pitkäaikaiseen altistukseen liittyvät myös harvinaisemmat sairaudet, kuten mm. astma tai alveoliitti. Sisäilmaongelmien terveysvaikutukset (akuutit ja krooniset) vaihtelevat ongelman aiheuttajien, esiintyvien mikrobilajien luonteen, määrän ja aineenvaihduntatuotteiden mukaan. Lisäksi merkittäviä tekijöitä ovat yksilön henkilökohtainen herkkyys sekä altistumisen kesto (Mayer, S 2008, Norbäck ym. 2015, Osborne ym. 2015, Jezak ym. 2016).

Sisäilmaongelmien aiheuttamat sekä terveydelliset että taloudelliset vaikutukset ovat merkittäviä; jo pelkästään terveyteen liittyvien kustannusten on arvioitu olevan jopa 953 milj.€/v, sisältäen oireista, sairauksista, niiden tutkimisesta, työkyvyn menettämisestä ja työtehon tuottavuuden laskusta aiheutuvat kustannukset (Reijula ym 2012). Kosteus- ja homevaurioiden kertaluonteiset korjauskustannukset on arvioitu olevan 1,4 miljardia euroa, joten korjaamalla rakennukset nopeasti, maksaisimme kustannukset jo muutamassa vuodessa takaisin vähenevinä terveyshaittakustannuksina (RIL 250-2011 2011).

Keuhkofunktiot

Terveisiin tiloihin siirtymisen jälkeen tutkittavien keuhkojen toiminta parani sekä ryhmä- että yksilötasolla, kun keuhkojen toimintakykyä tutkittiin virtaustilavuus spirometrian ja uloshengityksen typpioksidin mittauksen (F_{ENO}) avulla. Vauriotiloissa työskentelyn aikana poikkeavan spirometrialöydöksen saaneista työntekijöistä noin puolella löydös normalisoitui 3 kuukauden kuluttua terveisiin tiloihin siirtymisen jälkeen. Samoin myös uloshengitysilman F_{ENO}-tulokset paranivat. Vastaavasti vauriotiloissa raportoidut oireet helpottuivat tai katosivat kokonaan valtaosalla terveisiin tiloihin siirtymisen myötä. Sisäilmaan liittyvien oireiden muutoksista on raportoitu Vilén ym. SIY 2020-tiivistelmässä ja keuhkofunktiomuutokset Päivinen ym. SIY-seminaarin artikkelissa.

Tutkimus osoitti, että terveisiin tiloihin siirtymisellä oli selkeä vaikutus työntekijöiden fysiologisiin vasteisiin keuhkofunktioiden avulla mitattuna. Mittausten yhteydessä suoritettut oirekyselyt tukivat löydöksiä. Aiemmissa tutkimuksissa Patovirta ym, Sauni ym ja Norrback ym. on saatu saman suuntaisia, mutta ei näin selviä löydöksiä (Patovirta ym. 2004, Norbäck ym. 2015, Kainu ym. 2015) Koska tutkimus oli ajoitettu ajankohtaisesti lähelle vauriotiloista terveisiin tiloihin siirtymistä, voidaan tuloksia pitää erityisesti sisäilmaolosuhteista kertovina. Terveisiin väistötiloihin siirtymisellä voidaan siis jo havaita selkeitä terveyshyötyjä koulun työntekijöillä kolmen kuukauden aikana. Kolme kuukautta on myös Örebro-kyselyissä yleisesti käytetty tarkastelujakso. Vastaavasti homevaurioisten rakennusten purkutyössä on havaittu keuhkofunktion laskua jo parin viikon työskentelyn jälkeen (Husman ym. 1996).

Koska sisäilmaongelmista koituneet terveydelliset ja taloudelliset vaikutukset ovat merkittäviä, olisi terveystaloudellisesti kannattavaa huolehtia rakennusten kunnossapidosta ennakoivasti ja asianmukaisesti, jolloin suurilta korjauskustannuksilta vältyttäisi ja terveyshaitoista aiheutuvat ylimääräiset kustannukset jäisivät toteutumatta (RIL 250-2011 2011). Lisäksi terveellisen sisäilman ja rakennuksen hyvä ylläpito on eettisesti kestävä, kestävä kehityksen ja

luonnonvarojen käytön kannalta järkevää ja turvaisi lisäksi rakennuksissa koulua käyvien lasten ja nuorten terveellisemmän tulevaisuuden. Huonokuntoisten rakennusten lisääntynyt tuuletustarve aiheuttaa myös ylimääräisiä energiakustannuksia.

Immunologiset vasteet

Neutrofiilien seerumitestit

Teoreettinen tausta

Altistusvaiheessa mikrobivaurioituneen rakennuksen sisäilman sisältämät itiöt kulkeutuvat keuhkorakkuloihin, joissa antigeeniesittelyyn kykenevät alveolaariset makrofagit tunnistavat ne hahmontunnistusreseptoreillaan samalla aktivoituen. Aktivoituneet makrofagit syövät itiöt sisäänsä fagosytoosiksi kutsutussa tapahtumaketjussa ja sulkevat ne fagosomi-nimisen vesikkelin sisään, johon aletaan tuottaa patogeeneja tuhoavia antimikrobiaalisia peptidejä ja myeloperoksidaasi (MPO)-entsyymin aktivoitumisen seurauksena hapen reaktiivisia yhdisteitä (**Atosuo ym. 2019 B, Hurst 2012, Kettle ym 1988**) Näin syntynyt fagolysosomi sisältää lopulta runsaasti patogeeneja peptidejä, joista pituudeltaan sopivimmat kuljetetaan luokan II MHC-molekyyleihin kiinnittyneinä makrofagin solukalvolle T-auttajasoluille esiteltäviksi (**Bretscher 2014, Magombedze ym. 2014, Owen ym. 2019**). Esittely tapahtuu lähimmässä imusolmukkeessa, jossa antigeeniesittelyn yhteydessä aktivoituneet T-auttajasolut auttavat antigeenipeptidin reseptoreillaan tunnistaneita ja sitä kautta aktivoituneita B-soluja muuttumaan aluksi itiöspesifistä matala-affiniteettistä IgM- ja myöhemmin korkea-affiniteettistä IgG-vasta-ainetta tuottavaksi plasmasuoluksi (**Bretscher 2014, Magombedze ym. 2014, Owen ym. 2019**).

Edellä kuvattu tapahtuu aina kun vieras patogeeni tunkeutuu isäntään ensimmäisen kerran (primääri-vaste). Kun patogeeni kohdataan toisen kerran (sekundääri-vaste), B-muistisolut aktivoituvat nopeammin ja tuottavat runsaasti korkea-affiniteettistä IgG-vasta-ainetta, joka kiinnittyy patogeeniin spesifisesti opsonisoiden sen. Patogeeniin (itiöön) kiinnittyneet IgG-vasta-aineet tarttuvat spesifisesti paitsi alveolaaristen makrofagien, tarvittaessa myös niiden tuottamien kemokiinien paikalle houkuttelemien neutrofiilien Fcγ-reseptoreihin, minkä seurauksena näiden kahden toiminnaltaan hyvin samankaltaisen solutyypin fagosytoosikoneistot aktivoituvat johtaen lopulta patogeenin hävittämiseen. Patogeenin tuhoamisen jälkeen antigeeniesittely päättyy ja vasta-ainetuotanto imusolmukkeissa ajetaan alas (**Owen ym. 2019**).

Edellä esitetyt yleisesti tunnetut sekundääri-vasteen vaiheet ovat normaaliin immuunivasteeseen kuuluvia tapahtumia. Vasta-ainetuotannon alasajo patogeenin eliminoinnin jälkeen on erityisen tärkeää, sillä pitkäaikainen spesifisen IgG-vasta-aineen tuotto johtaa ennen pitkää autoreaktiivisten vasta-aineiden syntymiseen (**Owen ym. 2019**).

Mikrobivaurioituneen rakennuksen hengitysilman sisältämät itiöt pitävät osaltaan alveolaariset makrofagit jatkuvasti aktivoituneina, mikä johtaa pysyvästi kohonneisiin seerumin IgG-pitoisuuksiin (**Atosuo ym. 2019 B**).

Sisäympäristön mikrobialtistus nostaa merkittävästi tilankäyttäjien itiöspesifisiä IgG-vasta-ainetasoja (**Atosuo ym. 2019 A**). Tässä pilottitutkimuksessa osoitettiin ensimmäistä kertaa selkeästi, miten seerumin kohonnut itiöspesifinen IgG-pitoisuus johtaa tehokkaampaan antigeenin tunnistukseen ja sitä kautta hapen haitallisten reaktiivisten yhdisteiden lisääntyneeseen tuottoon itiöantigeeni-IgG-kompleksin Fcγ-reseptoriensa kautta

tunnistaneiden neutrofiilien toimesta. Pitkittyneen altistuksen seurauksena kosteusvauriorakennuksessa työskentelevän altistuneen henkilön seerumin itiöspesifinen IgG-pitoisuus näyttäisi olevan pysyvästi koholla, mikä saattaa lopulta johtaa edellä mainittujen terveydelle vaarallisten immuunikompleksien kertymiseen mm. keuhkorakkuloiden läheisyyteen. Samansuuntaisia mikrobispesifin IgG-vasta-aineen korrelaatioita oireiluun ja infektiosairastavuuteen on havaittu mm. Patovirran tutkimuksessa opettajilla ja rakennustyöntekijöillä Rautialan väitöskirja-aineistossa (**Rautiala vk 2004**) Samanlaisia havaintoja on julkaistu myös maataloustyössä (**Erkinjuntti-Pekkanen 1997 ja 1999, Kokkarinen ym. 1997**)

Pääasiallinen altistuminen sisäilman haitallisille itiöille ja muille partikkeleille tapahtuu hengitystien kautta. (**Hyvönen ym. 2019, Myllykangas-Luosujärvi ym. 2002, Luosujärvi ym. 2003, Täubel ym. 2011**). Hiirillä tehdyissä tutkimuksissa on osoitettu, että sisäilmavauriomikrobien itiöt (mm. *Streptomyces* ja *A. versicolor*) aiheuttavat keuhkoissa akuutin tulehdustilan, joka ilmenee sytokiinituotantona ja valkosolujen aktivaationa (**Jussila ym. 2002 A, B ja C, Wolff ym. 2009**). Hamstereilla tehdyssä kokeessa on todettu, että suurin osa (67 %) sisään hengitetyistä itiöistä kulkeutuu keuhkorakkuloihin (alveoli) missä ne kiinnittyvät passiivisesti epiteeliä peittävään biofilmiin (**Geiser ym. 2000**) ja tulevat fagosytoituuksi alveolaaristen makrofagien toimesta. Keuhkorakkulan sisäpinnan epiteeliä peittävä biofilmi sisältää paitsi joukon antimikrobiaalisia proteiineja, myös sinne aktiivisesti reseptorivälitteisellä transsytoosilla kuljetettuja IgG-vasta-aineita jotka helpottavat partikkelien fagosytoosia (**Kim ym. 2003, Bignon ym 1979**). Tulehdustiloissa myös neutrofiilit pystyvät kulkeutumaan kemokiinien ohjaamina keuhkorakkulan epiteelin läpi fagositomaan biofilmille kiinnittyneitä vieraspartikkeleita (**Zemans 2018**)

Vieraspartikkelien hävittäminen fagositomalla ilman tulehdusreaktion aktivoitumista on alveolaaristen makrofagien perustehtäviä terveellä henkilöllä. Astma, allerginen alveoliitti (homepölykeuhko), silikoosi (kivipölykeuhko) ja asbestoosi ovat esimerkkisairauksia, joissa alveolaaristen makrofagien toiminnan säätely on häiriintynyt (astma) ja/tai joko osittain tai kokonaan estynyt keuhkoihin tunkeutuneen vieraspartikkelin liian suuren määrän (silikoosi) tai koon (asbestoosi) vuoksi. Kaikille em. sairauksille on tyypillistä paitsi alveolaaristen makrofagien muuttuminen tulehdussytokiineja tuottaviksi tulehdusmakrofageiksi, myös neutrofiilien ja eosinofiilien kertyminen tulehduspaikalle, missä ne vieraspartikkelien kanssa reagoidessaan tuottavat kudostuhoa aiheuttavia yhdisteitä, kuten MPO-aktivaation seurauksena syntyviä reaktiivisia happiradikaaleja (**Nuutila ym. 2009, Bradley ym. 1982, Atosuo ym. 2019 B**). Normaali kudoksen kestäminen infektiota aiheuttamatta lyhytaikaista matala-asteista oksidatiivista räsitystä yleensä hyvin, mutta vuosia tai vuosikymmeniä jatkuvan kroonisen tulehduksen ylläpitämä radikaalirasitus aiheuttaa lopulta kudosten muutoksia, arpeutumista ja toiminnan heikkenemistä. Vastaavia löydöksiä on havaittu koe-eläimillä toksisia tuottavien mikrobien altistamisen yhteydessä (**Jussila vk 2003, Nikulin ym. 1996**).

Jatkuvasta hengitysilman kautta tapahtuvasta itiöaltistuksesta johtuvat oireet tilankäyttäjillä ovat moninaisia koostuen tukkoisuuden tunteesta ja yskästä aina hengenahdistukseen ja veriyskään asti. Yllä mainittujen keuhkosairauksien oireista astmaan sopivat hengenahdistus ja hengityksen vinkuna, sekä yöyskä, joita esiintyy yleisesti mikrobivaurioisten rakennusten työntekijöillä. Toisaalta jotkut oireista ovat yhteensopivia ODTS:n (organic dust toxic syndrome) ja alveoliitin eli homepölykeuhkon oireiston kanssa (**Rautiala vk 2004**). Majvik-2-suosituksessa todetaan tulevien tutkimustarpeiden joukossa sekä alveoliitin että ODTS:n kroonisten muotojen tutkimus, että IgG-alaluokkien esiintymisen tutkiminen väestössä ja eri ammattiteissa toimivilla (**Majvik II**).

Vaikka tarkkaa syntymekanismia hengitysilman kautta tapahtuvasta itiöaltistuksesta johtuville oireille ei kaikilta osin vielä tunnetakaan, aikaisemmin julkaistut TTL:n ja THL:n väitöstutkimukset yhdessä tämän tutkimuksen sekä kansainvälisen tutkimusnäytön kanssa täydentävät kokonaiskuvaa: joillain ihmisillä pitkäaikainen mikrobialtistus aiheuttaa

1. keuhkoärsytystä ja koettuja oireita,
2. seerumin itiöspesifisen IgG-vasta-ainepitoisuuden pysyvää kohoamista, mikä puolestaan johtaa
3. tehokkaampaan itiöiden opsonisaatioon ja sitä kautta
4. tehostuneeseen fagosytoosiin ja lopulta
5. lisääntyneeseen radikaalituotantoon.

Tämä tieto yhdistettynä yleiseen immunologiseen tietoon siitä, että pitkittynyt altistus johtaa ennen pitkää kroonisen tulehduksen syntymiseen, sekä siihen että IgG ja neutrofiilit kulkeutuvat verenkierrasta epiteelisolujen läpi keuhkorakkulaan tunnistamaan ja fagosytoimaan epiteelin biofilmille kiinnittyneitä vieraspartikkeleita (Kim ym. 2003) antaa aiempaa paremman kuvan oireiden taustalla olevista immunologisista mekanismeista. Kirjallisuudessa on viitteitä mm. siitä, että korkeat mikrobispesifiset IgG-arvot korreloivat myös esim. alveoliitin kanssa (Erkinjuntti-Pekkanen ym. 1999) ja kiertävät immuunikompleksit assosioituvat reuman sukuisiin sairauksiin kosteusvauriomikrobeille altistuneilla työntekijöillä (Myllykangas-Luosujärvi ym 2002 ja Luosujärvi ym 2003).

Menetelmä voidaan adaptoida tehtäväksi myös kokoverilaimennoksesta ja autologisena systeeminä, jolloin testiä voidaan viedä *'in situ'*- tyyppisen pikatestauksen suuntaan. Tällöin pyritään käyttämään potilaan omaa sormenpääverenäytettä sekä vasta-ainelähteenä että signaalia tuottavien neutrofiilien lähteenä. Tämä nopeuttaisi huomattavasti sekä altistumisen osoittamista että terveystestien mittaamista oireilevilla ja vielä oireettomilla, mutta altistuvilla työntekijöillä. Tämä mahdollistaisi varhaisemman diagnostiikan ja todennäköisesti säästyisi runsaasti sairastavuudesta aiheutuvia kustannuksia.

Leukosyyttireseptoreiden fenotyyppikseen perustuva diagnostiikka osoitti eroja vakavamman oireilun ja tulehdustilojen välillä (Kuvat 9 ja 10). Sekä vakava oireilu, siis esim. huonossa hoitotasapainossa oleva astma ja vaikeat hengenahdistukset ja muut hengitysvaikeudet ja allerginen nuha, infektiosairaudet kuten poskiontelotulehdukset, akuutit ja krooniset bronkiitit nostivat BI-indeksi-arvoa. Lievemmat ärsytysoireet, nenän tukkoisuus, silmien kutina, ihon kutina, äänen käheys, väsymys ja päänsärky eivät aiheuttaneet BI-indeksin nousua.

IgG- vasteet

Kosteusvauriot ja niiden yhteydessä esiintyvät mikrobit ovat yhteydessä lukuisiin terveyshaittoihin (WHO 2018, Wiesmuller ym. 2017). Mikrobeille altistutaan tyypillisesti hengittämällä itiöitä ja kuollutta mikrobiperäistä materiaalia sisältävää huoneilmaa (Wiesmuller ym. 2017, Hurrass ym. 2017). Tyypillisiä kosteusvauriomikrobeille altistumisen yhteydessä tavattavia oireita ovat ärsytys hengitysteissä, iholla ja silmissä. Pitkäaikainen altistuminen on yhteydessä hengitystieinfektioihin ja astmaan (Karvala ym. 2013, Vuokko ym. 2015, Karvala ym. 2008, Park ym. 2012, Koskinen ym. 1999, Baxi ym. 2019). ja allergiseen alveoliittiin (Rautiala vk 2004). Allergista alveoliittia tavataan ensisijaisesti korkeissa mikrobipitoisuuksissa eri työympäristöissä, mutta ODS voi ilmentyä myös lyhytaikaisessa altistumisessa (Uitti ym. 2011). Purku- ja korjaustöissä myös muut kuin työtä suorittavat henkilöt voivat altistua korkeille mikrobipitoisuuksille, mikäli tila on normaalissa

käytössä ja suojaus on puutteellinen korjaustöiden aikaan. Mittausten mukaan purkutyötilanteessa itiöpitoisuudet saattavat olla samalla tasolla kuin lypsykarjatilastoilla (**Haatainen ym 1996, Rautiala vk 2004**). Onkin mahdollista, että orgaaninen pöly yleensä ja mikrobiperäinen aines erityisesti voi herkistää työntekijöitä, ärsyttää limakalvoja ja häiritä värekarvojen toimintaa hengitysteissä (**Kohler ym. 2017**). Herkistymisen ja ärsytys limakalvoilla sekä hengitysteissä puolestaan saattaa altistaa tavallisille hengitystieinfektioille (**Denning ym. 2017, Patovirta vk 2005, Ruoppi 2009**). Mikrosienet ja hiivat voivat myös aiheuttaa suoran infektion esim. poskionteloissa ja syvemmällä ilmateissa (**Owen ym. 2019**).

Mekanismeja, joilla kosteusvauriomikrobeille altistuminen aktivoi immuunijärjestelmän, ei vielä tarkkaan tunneta. Vaurio on havaitsemisvaiheessa usein jo pitkälle edennyt, jolloin alkuperäinen tekijä saattaa jäädä löytämättä. Oireileva henkilö on voinut myös altistua aikaisemmin elämässään, ja lisäksi yksilöiden väliset erot ovat suuria. Nämä tekijät yhdessä hankaloittavat yhden avaintekijän tai mekanismin tunnistamista.

Tulokset osoittavat, että IgG2-tasot olivat korkeammat vaurioituneissa rakennuksissa työskentelevillä kuin vaurioitumattomissa rakennuksissa, ja ero oli tilastollisesti merkitsevä. Kohonneet IgG1-, IgG2- ja IgG3-vasta-ainetasot ovat merkki immuunijärjestelmän aktivoitumisesta.

Immuunijärjestelmän aktivoituminen on normaali reaktio kehon puolustautuessa sitä uhkaavia mikrobeja vastaan. Kohonneet vasta-ainetasot eivät siis välttämättä viittaa sairauteen tai muuhun häiriöön. IgG-tasot korreloivat ensisijaisesti kosteusvaurioille altistumisen kanssa, eivät altistumisen yhteydessä esiintyvien oireiden kanssa. Jatkuva immuunijärjestelmän aktivaatio voi kuitenkin johtaa kroonisen tulehdustilan eli inflammatorion syntymään (**Owen ym. 2019**). Krooninen tulehdus saattaa olla osatekijä monien sisäilmaongelmien yhteydessä muuta väestöä useammin tavattavien oireiden ja sairauksien (**Hyvönen ym. 2019, Myllykangas-Luosujärvi ym. 2002, Luosujärvi ym. 2003**) taustalla.

Hengitysteitä ja keuhkojen pintaa päällystävät limakalvot ovat jatkuvasti kosketuksissa kehon ulkoisen ympäristön kanssa, minkä vuoksi niiden rooli altistumisessa mikrobeille ja muille immuunijärjestelmää aktivoiville tekijöille on merkittävä. Keuhkojen limakalvonalaiset imukudokset (MALT) tuottavat paikallisesti antigeenispesifisiä vasta-aineita. Kaikkia Ig-luokkia ja miltei kaikkia niiden alaluokkia on todettu tuotettavan keuhkoissa (**Soutar 1976, Salvi ym. 1999**). Immunoglobuliineja siirtyy keuhkoihin myös verenkierrosta diffuusion avulla.

Aiemmassa tutkimuksessa ei havaittu itiöspesifisten IgM- ja IgA-luokan vasta-aineiden nousua kosteusvauriotiloissa työskentelevillä (**Atosuo ym. 2019 A, TSR hanke 114168**). IgM on ensimmäinen B-lymfosyyttien aktivoitumisen (primäärivaste) seurauksena tuotettu vasta-aineluokka. Kosteusvauriot havaitaan tyypillisesti vasta ensialtistumisen jälkeen, mikä selittää sen miksi altistuneiden ja altistumattomien IgM-vasteissa ei nähdä eroja.

IgG, joka jaetaan alaluokkiin IgG1, IgG2, IgG3 ja IgG4, on plasmassa runsaimmin esiintyvä immunoglobuliini. Kaikkia IgG:n alaluokkia on tavattu myös keuhkoista. Aiemmassa tutkimuksessa havaittiin kosteusvaurioille altistuneilla henkilöillä ryhmätasolla korkeampia IgG1- ja IgG3-alaluokkien tasoja (**Atosuo ym. 2019 A**). Tässä tutkimuksessa myös IgG2-alaluokan tasojen havaittiin olevan korkeampia.

Serologisia ELISA-menetelmiä kosteusvauriomikrobeita vastaan muodostuneiden immunoglobuliinien toteamiseen on tällä hetkellä olemassa ja käytössä (29), mutta nämä menetelmät eivät mittaa erityisesti mikrobi-itiöspesifisiä vasta-aineita. Työterveyslaitos on lopettanut mikrobispesifisten IgG-vasta-aineiden analysoinnin pian sen jälkeen, kun vertailuviitearvot aikuisille ja lapsille oli uudistettu (**Korppi ym 2003**). Elävien solujen ja itiöiden antigeenirakenteiden välillä on eroja, ja kosteusvaurioituneiden rakennusten sisäilman kautta altistutaan ensisijaisesti mikrobien itiöille (**Henriques ym. 2000**). Tässä tutkimuksessa käytetty, puhtaasti itiöspesifisiä vasta-aineita mittaava ELISA-menetelmä tarjoaa uuden keinon tutkia kosteusvaurioiden vaikutusta immuunijärjestelmään. Tämä tutkimus oli osa Työsuojelurahaston rahoittamaa projektia.

Kiertävät immuunikompleksit

Korkeat CIC-pitoisuudet olivat kosteusvauriomikrobeille altistuneilla yleisempiä, ja ero oli vertailuryhmään verrattuna tilastollisesti merkitsevä. Immuunikompleksien kertymistä ja siihen liittyviä sairauksia esiintyy pienellä osalla populaatioita, joten on syytä tehdä mittauksia laajemmalla otannalla, jotta löydöksen kliinistä merkitystä voidaan tarkastella. Korkea immuunikompleksipitoisuus seerumissa ei yksinään ole diagnoosi sairaudesta, mutta ulkoilmatutkimuksessa on ajateltu immuunikompleksien ilmaantumisen edeltävän kliinistä sairastumista (**Husman vk 1995**).

Kosteusvaurioituneissa tiloissa altistutaan mikrobiperäiselle materiaalille ensisijaisesti keuhkojen kautta, sillä ne ovat merkittävä rajapinta henkilön kudosten ja sisäilman välillä. Keuhkot ovat olennainen osa immuunijärjestelmää (**Soutar 1976, Li ym. 2019**), ja on olemassa hypoteesi, että keuhkoihin sijoittuva krooninen tulehdus ja kudusvaurio ovat avaintekijä reumassa ja autoimmuunisairauksissa (**Fortuna ym. 2013, Anderson R. ym. 2016, Holers ym. 2018, Poole ym. 2019**), joissa immuunikompleksit ovat keskeisessä roolissa (**McDougal ym. 1985**). Hengitysilman epäpuhtauksilla on merkittävä rooli kroonisen tulehduksen synnyssä; tupakointi, ilmansaasteet ja teollisuudessa syntyvä orgaaninen pöly ovat kaikki yhteydessä esimerkiksi kohonneeseen riskiin sairastua nivelreumaan ja moniin muihin autoimmuunisairauksiin (**Ilar ym. 2019, Anderson R. ym. 2016, Essouma ym. 2015, Husman vk 1995, Myllykangas-Luosujärvi ym. 2002, Luosujärvi ym. 2003, Olsson ym. 2000 ja 2004**).

Omassa tutkimuksessamme olemme havainneet, että kosteusvauriomikrobeilla on vaikutusta tilankäyttäjien immuunijärjestelmään; mikrobien itiöspesifiset Ig-vasta-ainetasot ovat mikrobeille altistuneilla korkeampia kuin altistumattomilla (**Atosuo ym. 2019 A**). Onkin mahdollista, että sisäilmasta hengitysteihin ja keuhkoihin päätyvä mikrobiperäinen materiaali aiheuttaa immuunijärjestelmän aktivaation kautta pitkäaikaisen inflammatoriatilan. Krooninen tulehdustila on mahdollinen avaintekijä sisäilmaongelmien yhteydessä tavattavien oireiden ja sairauksien takana.

Tavoitteena tulevaisuudessa on jatkaa tutkimusta kosteusvauriomikrobien ja immuunikompleksien kertymisen välisestä mahdollisesta yhteydestä laajemmalla otannalla ja yhdistää saatuja tuloksia muihin inflammatoioon liittyviin parametreihin.

Sytokiinit

Kosteusvauriomikrobien vaikutusta sytokiinituotantoon on tutkittu kosteusvaurioille altistuneilla ihmisillä, ihmis- ja hiirisoluissa sekä hiirillä. Altistuneilla henkilöillä ylähengitysteiden oireilu on yhteydessä kohonneeseen IL-6- ja TNF α -tasoihin (**Roponen vk 2002**). Altistuksella on vaikutusta valkosolujen sytokiinintuotantoprofiiliin (**Rosenblum**

Lichtenstein ym. 2015) Hiirillä kosteusvauriomikrobien itiöille altistumisen on todettu nostavan seerumin IL-6- ja TNF α -tasoja (**Jussila ym. 2001 ja 2002**). Hiiri- ja ihmissolukokeissa mikrobien on todettu nostavan IL-6-tasoa; vaikutus TNF- α ja IL-1 β -tasoihin oli vähäisempi (**Huttunen ym. 2003, Oya ym. 2019**).

Tässä tutkimuksessa seerumin IL-6- ja IL-4-, -tasoissa ei löydetty eroja kosteusvaurioille altistuneiden ja altistumattomien välillä. IL-1 β - ja TNF- α -tasoa ei ole vielä tutkittu riittävän isolla otannalla, jotta voitaisi tehdä merkittävää vertailua altistumattomien ja altistuneiden välillä. Yksilöiden väliset erot sytokiinitasoissa ovat suuria, joten on mahdollista, että mielekästä olisi vertailla muutoksia yksilön tasoissa eri altistumisolosuhteissa (**Roponen vk 2002**). Toinen tulehdusytokiinien mittaamisen ongelma, joka on havaittu omissa tutkimuksissamme, on niiden erityksen transientti luonne. Niiden tuotanto ja erityy tapahtuvat nopeasti vasteen tietyssä vaiheessa ja sen jälkeen laskevat nopeasti lähes basaalitasolle. Silti niiden vaikutukset heijastuvat ajallisesti pitkälle tulehdusreaktion edetessä. Tutkimusta tulee jatkaa isommalla otannalla.

FGF-21

FGF-21 on energiahomeostaasin säätelyyn osallistuva hormoni, joka on herättänyt kiinnostusta mahdollisena markkerina muun muassa tyypin 2 diabeteksessa. Tämän hankkeen aikana tehtyjen alustavien tutkimuksien perusteella FGF-21 ei kuitenkaan osoittanut selvää yhteyttä vaurioihin tai oireiluun. Vauriokohteesta löydettiin potentiaalisesti mitokondriomyrkyjä tuottavia lajeja, esim. *Streptomyces*-lajikkeita, mutta FGF-21 ei ollut työntekijöillä ryhmätasolla koholla. Merkitsevää tuloksissa on kuitenkin se, että yksittäisiltä vauriokohteen henkilöiltä löytyivät korkeimmat arvot ja tämä saattaa olla kliinisesti merkitsevää. Myös FGF-21 markkerin tutkimusta jatketaan ja sen yhteyttä esim. oireiluun selvitetään tarkemmin.

Komplementtisysteemin aktiivisuus

Seerumin komplementtisysteemi on elimistömme synnynnäisen immuunisysteemin tärkeä liukoinen puolustussysteemi, joka tappaa patogeenejä membraaneja puhkovilla komplekseilla, osallistuu tehokkaana opsoniininä soluvasteeseen, kiihdyttäen leukosyyttien fagosytoosiaktiivisuutta sekä vaikuttaen koko immuunipuolustukseen vasteen säätelijänä ja homeostaasin ylläpitäjänä. Tutkimuksessa selvitettiin, onko oireilulla yhteyttä seerumin aktiivisuuksiin.

Tässä tutkimuksessa testattiin näyteseerumien komplementtisysteemien mikrobintappoaktiivisuuksia. Trendinä oli, että klassinen reaktiotie oli aktiivisempi altistuneiden ryhmässä ja erot olivat tilastollisesti merkitseviä. Johtopäätösten teko on siksi hankalaa. Yhtenä syynä klassisen reaktiotien korkeampaan aktiivisuuteen saattaa olla tulehdistilassa kohonneet seerumin vasta-ainepitoisuudet. Klassinen reaktiotie aktivoituu varsinkin gammaglobuliinien (IgG) tartuttua kohteen pintaan, eli mitä enemmän esim. IgG-vasta-aineita löytyy, sitä tehokkaammin klassinen reaktiotie aktivoituu. Tulokset ovat linjassa altistuneiden korkeimpien IgG-tasojen ja kiertävien immuunikompleksien tasojen kanssa. Ihmisen komplementtisysteemin aktivaatiotutkimuksen (**Atosuo ym. 2012**) lisäksi menetelmää on käytetty lepakkojen (**Lilley ym. 2014**) ja kalojen (**Kilpi ym. 2009**) komplementtisysteemin tutkimukseen.

Toksisuusmittaukset

Kosteusvauriorakennuksissa ja monissa työympäristöissä esiintyy sekä mikrobiologisia että kemiallisia altisteita. Altistumisen ja oireiden väliset yhteydet tunnetaan vielä puutteellisesti. Osassa kohteista oireilu viittaa toksisuuden esiintymiseen (**Putus ym. 2017 D, Haverinen-Shaughnessy ym. 2008**) Toksisuusmittauksia ei ole vielä virallisesti hyväksytty kosteusvaurioihin liittyvien mikrobihaittojen riskinarviointiin (**Sosiaali- ja terveysministeriö, 2009**).

Testillä olisi käyttöalueita myös monilla työaloilla, rakennusteollisuudessa, maataloudessa, sahoilla, jätteenkäsittelyssä ja monissa biotalouden työvaiheissa.

Osa mikrobeista on potentiaalisesti toksiineja tuottavia. Sisäilman toksiinien vaikutusta terveyteen on arvioitu monella tavalla, mutta luotettavien ja kustannustehokkaiden testimenetelmien ja näytteenkeräysmenetelmien löytäminen on osoittautunut vaikeaksi. Biologisten vasteiden mittaaminen on olennaista, koska kemiallinen analytiikka ei paljasta kokonaisvaikutusta. Viljelyyn perustuva mikrobien tunnistus ei sinällään osoita toksisuutta, vaan se kertoo esim. potentiaalisesti toksiineja tuottavien lajien esiintymisestä. Riskinarviointiin tarvitaan tieto sekä mikrobien lajistosta että sisäilman toksisuudesta.

Kuolevista mikrobeista vapautuvilla pienhiukkasilla, pölyyn sitoutuneilla toksiineilla, endotoksiinilla, glukaanilla ja kitiinillä on kokonaisriskinarvioinnissa enemmän merkitystä kuin elinkykyisillä mikrobeilla. Homesienten pintarakenteiden entsyymien tai pölyn toksisuuden mittaamista ei rutiininomaisesti tehdä, vaikka eri kosteusvauriomikrobien solutoksisuus on osoitettu lukuisissa tutkimuksissa sekä Suomessa että ulkomailla (**Jussila ym. 2001, Murtoniemi ym. 2001, Murtoniemi ym. 2003 A, Murtoniemi ym. 2003 B**). Kuten aikaisemmissa THL:n tutkimuksissa on osoitettu (**Täubel ym. 2011**), sisäilman bakteeri- ja mykotoksiinit ovat mitattavissa sisäilman laskeutuneesta pölystä. Tämän lisäksi sisäilmassa saattaa olla rakennusmateriaaleista emittoituvista kemikaaleista johtuvaa toksisuutta. Sisäilman toksisuuden mittaamisella pyritään nyt arvioimaan edellä kuvattujen tekijöiden tilankäyttäjille aiheuttamaa riskiä (**Atosuo vk 2015**). Nopeat ja edulliset toksisuusmittaukset voisivat toimia hyvinä priorisointityökaluina, jolloin ongelmia voitaisiin ensin kartoittaa ja vasta sen jälkeen päättää, mitkä kohteet tarvitsevat perusteellisempia selvittelyjä. Toksiineille, glukaanille ja endotoksiineille ei kuitenkaan ole vielä olemassa viranomaisten asettamia viitearvoja (**Sosiaali- ja terveysministeriö 2009**).

Työskentelytiloista kerättyjen yläpölynäytteiden kokonaistoksisuutta *E. coli*-lux testillä, joka perustuu *E. coli*-lux bakteereiden tuottamaan bioluminesenssiin, joka heikkenee toksiinialtistuksessa (**Atosuo ym. 2012, Atosuo vk 2015**). Menetelmää on tutkittu ja validoitu myös useissa muissa TSR-hankkeissa (**TSR-hankkeet 113065, 114151, 114168 ja 116050**) ja sen on todettu korreloivan hyvin mikrobivaurioiden ja oireilun indikaattoriksi. Toksisuusmittaukset ovat tutkimusyksikkö TROSSI:n rutiinikäytössä yhdessä muiden vauriotutkimusten, kuten mikrobiotutkimusten rinnalla ja menetelmä kertoo nopeasti mahdollisen ongelman olemassaolosta ja kenties myös sen laajuudesta.

Hankkeen johtopäätelmät ja vastaukset tutkimuskysymyksiin

Hankkeen johtopäätöksinä voidaan todeta, että sisäilmaongelmainen työpaikkarakennus on yhteydessä moniin lyhyt- ja pitkäaikaisiin oireisiin altistuneilla työntekijöillä. Rakennuksen kuntotutkimus ja siinä yhteydessä otetut mikrobien viljelyyn perustuvat näytteet yhdessä pinnoille laskeutuneen pölyn toksisuusanalyysien kanssa täydentävät altistumismittausten valikoimaa erityisesti tilanteissa, joissa pinta- ja tiivistyskorjaukset ovat epäonnistuneet. Kun altistumismittaukset yhdistetään oirekyselyn tietojen ja kliinisyfysiologisten mittausten ja immunologisten vasteenmittausten kanssa, voidaan tehdä tarkempi riskinarvio käyttäjiin kohdistuvista terveysriskeistä.

Pilottitutkimuksemme ovat jo osoittaneet, että puhtaisiin väistötiloihin siirtyminen ja rakennusten korjaaminen vähentävät käyttäjien oireilua sekä parantaa keuhkofunktiota sekä keskiarvoisesti että yksilötasolla, hyödyttää työnantajaa, kun poissaolot vähenevät ja työviihtyvyys paranee ja lisäksi rakennuksen muiden käyttäjien (esim. oppilaiden tai asiakkaiden) olosuhteet paranevat. Oikein tehdyt korjaukset auttavat myös kuntaa järkevässä taloudenpidossa. Kunnossa olevat työpaikat, koulut ja päiväkodit ovat merkittävä vetovoimatekijä myös tulevaisuudessa.

Vastauksena tutkimuskysymyksiin työryhmämme toteaa että

- Olemme kehittäneet uusia kenttäkelpoisia toistettavia mittareita sisäilmaongelmaisten työtilojen ja niiden käyttäjien tutkimukseen.
- Uusia altistumista mittaavia testejä sekä laskeutuneen pölyn toksisuusmittauksia voidaan yhdessä viljelyyn perustuvien materiaalinäytteiden ja kemiallisten analyysien rinnalla suositella myös viranomaiskäyttöön ja lääketieteellisen diagnostiikan avuksi erityisesti ongelmallisissa kohteissa, kun sisäilmaongelma pitkittyy. Uudet testit ja mittausten menetelmät soveltuvat todennäköisesti myös riskinarvioinnin apuvälineiksi aikaisempien testien rinnalla työterveyshuollossa ja erikoissairaanhoidossa, kun tavoitteena on aikaisempaa tarkempi diagnostiikka, sairauksien varhaisempi toteaminen ja työkyvyn säilyttäminen. Nykyisin käytössä olevilla testeillä yhteys altistumisen ja sairauden välillä voidaan osoittaa niin myöhäisessä vaiheessa, ettei työkykyä voida enää palauttaa. Tämä johtaa työurien ennenaikaiseen katkeamiseen ja tarpeettomiin kustannuksiin.
- Uudet immunologiset altistumistestit (leukosyyttien aktivaatiotesti ja fenotyyppitys, vasta-ainetestit ja mitokondriotestit) korreloivat altistumismittauksiin ja toksisuustesteihin sekä toisaalta vanhoihin IgG-vasta-ainetesteihin, joita ei ole enää saatavilla kuin vanhoissa aineistoissa. Korrelaatio oireisiin ja keuhkofunktioon on hyvä. Väistötiloihin siirtyminen edistää terveyden palautumista ilman psykoterapiaa.
- Löydösten varmentaminen edellyttää tutkimusten jatkamista suuremmilla aineistoilla, toistamista eri työympäristöissä ja pitkäaikaista seurantaa. Tähän työryhmämme on jo saanut ulkopuolista rahoitusta.
- Em. löydösten arviointi terveystaloudellisilla mittareilla on parhaillaan käynnissä DI Olavi Holmijoen toteuttamassa tutkimushankkeessa TROSSI-yksikössä, johon Työsuojelurahasto on osoittanut tutkimusapurahan.

KIITOKSET

Tutkijaryhmä kiittää lämpimästi Työsuojelurahastoa taloudellisesta tuesta, tutkimukseen osallistuneita työntekijöitä avusta aineiston keräysvaiheessa ja SataKunta-hankkeessa mukana olevia kuntia ja kaupunkeja pitkäaikaisesta sitoutumisesta rakennetun ympäristön parantamiseen, hyvään työterveyshuoltokäytäntöön ja sairauksien ennaltaehkäisyyn. Tutkimusryhmä kiittää myös Turun yliopiston johtoa taloudellisesta tuesta laitehankintojen ja liikkuvan kenttäklinikan hankkimiseksi sekä Eduskuntaa ja yksityisiä säätiöitä, joiden tuen turvin toiminta voidaan vakiinnuttaa ja viedä kentälle hyödyntämään suomalaista työelämää ja kansantaloutta.

6. Julkaisutoiminta

Julkaisut:

Atosuo, J., Karhuvaara, O., Suominen, E., Vilén, L., Nuutila, J., Putus, T. 2020. **The indoor exposure to the *Streptomyces albus* and *Aspergillus versicolor* elevated the levels of the spore specific IgG, IgG1 and IgG3 serum antibodies in building users. The new spore specific ELISA-assay for the exposure assessment.** Journal of Total Environment, 2019, Sep 6;698:134335. doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.134335. [Epub ahead of print]

Atosuo, J., Suominen, E. 2019, **A real-time-based in vitro assessment of the oxidative antimicrobial mechanisms of the myeloperoxidase-H₂O₂-halide system.** Molecular Immunology, 2019, Oct 5;116:38-44. doi: 10.1016/j.molimm.2019.09.017. [Epub ahead of print]

Atosuo, J., Päivinen, M., Vilén, L., Suominen, E., Putus, T. 2019, **TROSSI, Turun yliopiston kliininen tutkimusyksikkö sisäilmaongelmien tutkimukseen**, Sisäilmastoseminaari 2019, Sisäilmayhdistys raportti 37, ISBN 978-952-5236-49-1

Putus, T. ja Atosuo, J. 2019, **Satakunta-hanke – valtakunnallinen interventiotutkimus** Sisäilmastoseminaari 2019, Sisäilmayhdistys raportti 37, ISBN 978-952-5236-49-1

Suominen, E. ja Putus, T. 2019, **Viljelijäväestön altistuminen, oireet ja hengityssairaudet**, Sisäilmastoseminaari 2019, Sisäilmayhdistys raportti 37, ISBN 978-952-5236-49-1

Karhuvaara O., Atosuo J., Suominen E., Vilén L., Nuutila J., Putus T. 2020. **Kosteusvauriomikrobialtistuksen yhteys immuunikompleksien muodostumiseen**, Sisäilmastoseminaari 2020

Karhuvaara O., Atosuo J., Suominen E., Vilén L., Nuutila J., Putus T. 2020, **Uusi ELISA-menetelmä kosteusvauriomikrobeille altistumisen arvioimiseen**, Sisäilmastoseminaari 2020

Vilén L., Päivinen M., Putus T. 2020. **Tapaustutkimus: Väistötilaan siirtymisen vaikutukset sisäilmaongelmista kärsineen lukion henkilökunnan terveyteen**, Sisäilmastoseminaari 2020

Päivinen M., Vilén L., Putus T. 2020. **Terveisiin tiloihin siirtymisen vaikutus työntekijöiden keuhkofunktioihin**, Sisäilmastoseminaari 2020

Putus T., Päivinen M., Vilén L., Suominen E., Atosuo J. 2020, **SataKunta-hankkeen tuloksia – Astma ja astmaoireet yleistyvät lapsilla sisäilmaongelmaisissa päiväkodeissa ja kouluissa** Sisäilmastoseminaari 2020

Putus T., Vilén L., Suominen E., Päivinen M., Atosuo J., 2020, **SataKunta-hankkeen päiväkodit - Koettu sisäilman laatu, oireet, sairaudet ja stressi päiväkotien henkilökunnalla**. Sisäilmastoseminaari 2020

7. Viitteet

Adan, OCG. Väitöskirja 1994, On the fungal defacement of interior finishes. Technische Universiteit Eindhoven; Netherlands.

Ammann H. 2005. Mold toxicity: risk assessment for humans exposed indoors. Kirjassa Johanning, E. (ed.) Bioaerosols, fungi, bacteria, mycotoxins and human health. Patho-physiology, clinical effects, exposure assessment and control in indoor environments and work. Fungal Research Group Foundation Inc. Albany New York USA.

American Thoracic Society. 1991. Lung function testing: Selection of reference values and interpretative strategies. American Review of Respiratory Disease. 144:1202-1218.

Andersson, K. 1993. The MM-questionnaire – a tool solving indoor air climate problems. Manual Department of Occupational and Environmental Medicine. Örebro, Sweden.

Anderson R, Meyer PW, Ally MM, Tikly M. 2016. Smoking and Air Pollution as Pro-Inflammatory Triggers for the Development of Rheumatoid Arthritis. Nicotine Tob Res. 18(7):1556-65.

Asumisterveysopas. 2009. STMN vuonna 2003 ilmestyneen Asumisterveysasetuksen soveltamisohje <https://onedrive.live.com/?cid=BD1C367BA804A671&id=BD1C367BA804A671%21119830&parId=BD1C367BA804A671%21119829&o=OneUp>

Asumisterveysasetuksen (STM 2015) soveltamisohje. 2016. Valvira.
<https://www.valvira.fi/ymparistoterveys/terveydensuojelu/asumisterveys>

Atosuo, J., Päivinen, M., Vilén, L., Suominen, E., Putus, T. 2019. TROSSI, Turun yliopiston kliininen tutkimusyksikkö sisäilmaongelmien tutkimukseen, Sisäilmastoseminaari 2019, Sisäilmayhdistys raportti 37, ISBN 978-952-5236-49-1

Atosuo, J., Karhuvaara, O., Suominen, E., Vilén, L., Nuutila, J., Putus, T. 2020. The indoor exposure to the *Streptomyces albus* and *Aspergillus versicolor* elevated the levels of the spore specific IgG, IgG1 and IgG3 serum antibodies in building users. The new spore specific ELISA-assay for the exposure assessment. Journal of Total Environment. 6;698:134335. doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.134335.

Atosuo, J., Suominen, E. 2019, A real-time-based in vitro assessment of the oxidative antimicrobial mechanisms of the myeloperoxidase-H₂O₂-halide system. Molecular Immunology. 5;116:38-44. doi: 10.1016/j.molimm.2019.09.017.

Atosuo, J., Lehtinen, J., Vojtek, L., Lilius, EM. 2012. *Escherichia coli* K-12 (pEGFPluxABCDEamp): a tool for analysis of bacterial killing by antibacterial agents and human complement activities on a real-time basis. Luminescence. 28 (5):771-9.

Atosuo, JT., Lilius, EM. 2011. The real-time-based assessment of the microbial killing by the antimicrobial compounds of neutrophils. ScientificWorldJournal. 11:2382-90. doi: 10.1100/2011/376278. Epub 2011 Dec 5.

Atosuo, J. Väitöskirja 2015, Novel cellular luminescence probes for immunological and toxicological assessments. Academic Dissertation Annales Universitatis Turkuensis, A1, no. 512. Finland.

- Baxi, SN., Sheehan, WJ., Sordillo, JE., Muilenberg, ML., Rogers, CA., Gaffin, JM., et al. 2019. Association between fungal spore exposure in inner-city schools and asthma morbidity. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 122(6):610,615.e1.
- Bignon, J., Jaurand, MC, Pinchon, MC., Sapin, C., Warnet, JM. 1979. Immunoelectron microscopic and immunochemical demonstration of serum proteins in the alveolar lining material of the rat lung. *Am Rev Respir Dis.* 113(2): 109-20.
- Bradley, PP., Christensen, R., Rothstein, G. 1982. Cellular and extracellular myeloperoxidase in pyogenic inflammation. *Blood.* 60(3):618-22.
- Bretscher, P.A. 2014. On the mechanism determining the Th1/Th2 phenotype of an immune response, and its pertinence to strategies for the prevention, and treatment, of certain infectious diseases. *Scand J Immunol.* 79(6):361-76.
- Crook, B., Burton, N.C. 2010. Indoor moulds, Sick Building Syndrome and building related illness. *Fungal Biology Reviews.* 24(3–4):106-113.
- Delves P.J., Martin S.J., Burton D.R., Roitt I.M. 2012. *Roitt's Essential Immunology.* 12th ed. Hoboken, USA: Willey-Blackwell.
- Denning, DW., Chakrabarti, A. 2017. Pulmonary and sinus fungal diseases in non-immunocompromised patients. *Lancet Infect Dis.* 17(11):e357-66.
- Douwes, J., McLean, D., Slater, T, Travier N, Cheng S, Pearce N. 2006. Pine dust, atopy and lung function: a cross-sectional study in sawmill workers. *Eur Respir J.* 28 (4): 791-8.
- Duquesnoy, B. 1984. Circulating immune complexes and complement in rheumatoid arthritis. *Ann Biol Clin (Paris).* 42(1):71-5.
- Erkinjuntti-Pekkanen, R. 1999. IgG antibodies, chronic bronchitis and pulmonary function values in farmer's lung patients and matched controls. *Allergy* 64(11):1181-7.
- Erkinjuntti-Pekkanen, R., Kokkarinen, JI., Tukiainen, HO., Pekkanen, J., Husman, K., Terho, EO. 1997. Long-term outcome of pulmonary function in farmer's lung: a 14 year follow-up with matched controls. *Eur Respir J.* 10(9):2046-50.
- Essouma, M., Noubiap, JJN. 2015. Is air pollution a risk factor for rheumatoid arthritis? *Journal of inflammation.* 12:48.
- Fortuna, G., Brennan, MT. 2013. Systemic lupus erythematosus: epidemiology, pathophysiology, manifestations, and management. *Dent Clin North Am.* 57(4):631-55.
- Geiser, M., Leupin, N., Maye, I., Im Hof, Vinzenz., Gehr, P. 2000. Interaction of fungal spores with the lungs: Distribution and retention of inhaled puffball (*Calvatia exipuliformis*) spores. *J Allergy Clin Immunol.* 106(1Pt1):92-100.
- Greasley, P. 2008. *Quantitative data analysis using SPSS: An introduction for health & social science.* Maidenhead: Open University Press.
- Guihong, C., Väitöskirja 2013, *Fungal DNA, Mould, Dampness and Allergens in School and Day Care Centers and Respiratory Health.* Department of Medicine, Akademiska Sjukhuset, Uppsala University, 942, Sweden. ISBN: 978-91-554-8788-1.
- Haatainen, S., Husman, T., Kalliokoski, P., et al. 1994. Työympäristö nykyaikaisella lypsykarjatilalla. Kuopion aluetyöterveyslaitos, Kuopion yliopisto, Kansanterveyslaitos.

- Haverinen, U., Väitöskirja 2002, Modelling Damage Observations and Their Association with Health Symptoms, National Public Health Institute A10/2002, Finland.
- Haverinen-Shaughnessy, U., Pekkanen, J., Nevalainen, A., Moschandreas, D. ja Husman, T. 2004. Estimating effects of moisture damage repairs on students' health-a long-term intervention study. *Journal of Exposure Analysis and Environmental Epidemiology*. Vol. 14, suppl.1, s. S58-S64. doi:10.1038/sj.jea.7500359
- Haverinen-Shaughnessy, U., Hyvärinen, A., Putus, T., Nevalainen, A. 2008. Monitoring success of remediation: seven case studies of moisture and mold damaged buildings, *Sci.Total Environ.* 399:19-27.
- Hellgren, UM., Hyvärinen, M., Holopainen, R., Reijula, K. 2011. Perceived indoor air quality, air-related symptoms and ventilation in Finnish hospitals. *Int J Occup Med Environ mealth.* 24 (1): 48-56.
- Hellgren, U-M. 2011. Perceived indoor air quality, air-related symptoms and ventilation in Finnish hospitals *Int J Occup Med Environ Health* 24(1):48–56.
- Henriques, AO., Moran, CP. 2000. Structure and assembly of the bacterial endospore coat. *Methods.* 20(1):95-110.
- Herbarth, O., Matysik, S. 2010. Decreasing concentrations of volatile organic compounds (VOC) emitted following home renovations. *Indoor Air.* 20(2): 141–146. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0668.2009.00631.x>
- Hirvonen MR, Ruotsalainen M, Roponen M, Hyvärinen A, Husman T, Kosma VM, Komulainen H, Savolainen K, Nevalainen A. Nitric oxide and proinflammatory cytokines in nasal lavage fluid associated with symptoms and exposure to moldy building microbes. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160 (6): 1943-6.
- Hirvonen, MR., Markkanen, P., Huttunen, K., Hyvärinen, A., Täubel, M., Järvi, K., Nevalainen, A., Salkinoja-Salonen, M., Andersson, M., Mikkola, R., Alenius, H., Leino, M., Lehto, M., Matikainen, S., Lilius, EM., Atosuo, J. 2012. Toxtest loppuraportti <https://thl.fi/documents/98567/1586976/Toxtest+loppuraportti.pdf/ff825d34-6991-4f07-ae27-b0d8c17edc8a>
- Holers, VM., Banda, NK. 2018. Complement in the Initiation and Evolution of Rheumatoid Arthritis. *Front Immunol.* 9:1057.
- Holmijoki, O. 2013. Korjausrakentaminen Suomessa : Rakennustekniset kustannukset, Työterveyslaitos. <http://urn.fi/URN:ISBN:978-952-261-253-3>
- Hurst, J.K. 2012. What really happens in the neutrophil phagosome? *Free Radic. Biol. Med.* 3:508-520.
- Husman, T. Väitöskirja 1995, Hengitystiesairaudet ja -oireet neljällä Etelä-Suomen teollisuuspaikkakunnalla: yhteys altistumiseen ilman saasteille. Helsinki, Finland.
- Husman, T. 2002. Kosteusvauriotaloissa asuneiden perheiden pitkäaikaiset terveyshaitat ja asumisterveysongelmista aiheutuneet kustannukset. KTL B5 / 2002 AsTe ry:n käyttäjäkysely, Finland.
- Huttunen, K., Hyvärinen, A., Nevalainen, A., Komulainen, H., Hirvonen, MR. 2003. Production of proinflammatory mediators by indoor air bacteria and fungal spores in mouse and human cell lines. *Environ Health Perspect.* 111(1):85-92.
- Huttunen, K., Peltonen, J., Nielsen, KF., Nuutinen, U., Jussila, J., Hirvonen, MR. 2004. Synergistic interaction in simultaneous exposure to *Streptomyces californicus* and *Stachybotrys chartarum*. *Env Health Perspectives.* 112(6):659-665.
- Hyvärinen, A. Väitöskirja 2002, Characterizing moisture damaged buildings – environmental and biological monitoring. Dissertation. Publications of the National Public Health Institute A8: 2002. 121 p. Finland.

Hyvärinen, A., Husman, T., Laitinen, S., Meklin, T., Taskinen, T., Korppi, M., Nevalainen, A. 2003. Microbial exposure and mold-specific serum IgG-levels among children with respiratory symptoms in 2 school buildings. *Arch Environ Health*. 58 (5):275-83.

Hyvönen, S., Syrjälä, H. 2019. Occupational rhinitis in damp and moldy workplaces. *Building. Microorganisms*. 22(5):457-62.

Ilar, A., Gustavsson, P., Wiebert, P., Alfredsson, L. 2019. Occupational exposure to organic dusts and risk of developing rheumatoid arthritis: findings from a Swedish population-based case-control study. *RMD Open*. 5(2):e001049,001049. eCollection 2019.

Immonen, J., Taskinen, T., Pekkanen, J., Korppi, M. 2004. Bronchial reactivity in students from moisture and mold-damaged schools: Changes in relation to changes in exposure. *Pediatric Asthma, Allergy & Immunology*. 17(2):116-125. doi:10.1089/0883187041269878

Jaakkola, J. 1986. Toimistorakennuksen Sisäilma ja Terveys, Lääkintöhallituksen tutkimuksia, Helsinki. ISBN 951-47-0069-4

Janeway, CA., Jr Medzhitov, R. 2002. Innate immune recognition. *Annu Rev Immunol*. 20:197-216.

Jaakkola, MS., Laitinen, S., Piipari, R., Uitti, J., Nordman, H., Haapala, AM., Jaakkola, JJ. 2002. Immunoglobulin G antibodies against indoor dampness-related microbes and adult-onset asthma: a population-based incident case-control study. *Clin Exp Immunol*. 129 (1):107-12.

Jestoi, M. Väitöskirja 2005, Emerging Fusarium-Mycotoxins in Finland, National Veterinary and Food Research Institute (EELA), Department of Chemistry and Department of Biochemistry and Food Chemistry, University of Turku 01/2005, Finland.

Jezak, K., Kozajda, A., Sowiak, M., Brzeznicki, S., Bonczarowska, M. ja Szadkowska Stanczyk, I. 2016. The capability of fungi isolated from moldy dwellings to produce toxins. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health*. 29(5): 823-836.

Johanning, E., Auger, P., Morey, P.R. Yang, C. S. ja Olmsted, E. 2014. Review of health hazards and prevention measures for response and recovery workers and volunteers after natural disasters, flooding, and water damage: mold and dampness. *Environmental Health and Preventive Medicine*. 19(2): 93–99.

Jonsson, M., Atosuo, J., Jestoi, M., Nathanail, AV., Kokkonen, UM., Anttila, M., Koivisto, P., Lilius, EM, Peltonen K. 2015. Repeated dose 28-day oral toxicity study of moniliformin in rats. *Toxicol Lett*. 17;233(1):38-44. doi: 10.1016/j.toxlet.2014.11.006. Epub 2014 Dec 4.

Jussila, J., Komulainen, H., Huttunen, K., Roponen, M., Halinen, A., Hyvärinen, A., Kosma, VM., Pelkonen, J., Hirvonen, ML. 2001. Inflammatory Responses in Mice after Intratracheal Instillation of Spores of *Streptomyces californicus* Isolated from Indoor Air of a Moldy Building. *Toxicol. Appl. Pharmacol*. 171:61-69.

Jussila, J., Komulainen, H., Huttunen, K., Roponen, M., Torkko, P., Kosma, V.-M., Pelkonen, J., Hirvonen, M.-R. 2002a. *Mycobacterium terrae* isolated from indoor air of a moisture-damaged building sustained biphasic inflammatory response in mouse lungs. *Environ Health Perspect*. 110:1119-1125.

Jussila, J., Komulainen, H., Kosma, VM., Nevalainen, A., Pelkonen, J., Hirvonen, MR. 2002b. Spores of *Aspergillus versicolor* isolated from indoor air of a moisture-damaged building provoke acute inflammation in mouse lungs. *Inhal Toxicol*. 14(12):1261-77.

- Jussila, J., Komulainen, H., Kosma, VM., Pelkonen, J., Hirvonen, MR. 2002c. Inflammatory potential of the spores of *Penicillium spinulosum* isolated from indoor air of a moisture-damaged building in mouse lungs. *Environ Toxicol Pharmacol.* 12(3):137-45.
- Jussila, J. Väitöskirja 2003, Inflammatory Responses in Mice after Intratracheal Instillation of Microbes Isolated from Moldy Buildings. National Public Health Institute A1/ 2003, Finland.
- Jurvelin, J. Väitöskirja 2003, Personal Exposures to Volatile Organic Compounds and Carbonyls: Relationship to Microenvironment Concentrations and Analysis of Sources. National Public Health Institute A9/ 2003, Finland.
- Kaarakainen, P., Rintala, H., Vepsäläinen, A., Hyvärinen, A., Nevalainen, A., Meklin, T. 2009. Microbial content of house dust samples determined with qPCR. *Sci Total Environ.* 407(16):4673-80.
- Kainu, A., Timonen, KL., Toikka, J., Qaiser, J., Pitkäniemi, J., Kotaniemi, JT., Lindqvist, A., Vanninen, E., Länsimies, E., Sovijärvi, ARA. 2016. Reference values of spirometry for Finnish adults. *Clin Physiol Funct Imaging.* 36:346–358. doi:10.1111/cpf.12237
- Kajanne, A., Eränen, L., Leijola, M., Paavola, J. 2002. Homeongelma ja sen psykososiaaliset vaikutukset. Sosiaali- ja terveystieteiden tutkimuskeskus 7. Helsinki.
- Kankkunen, P., Rintahaka, J., Aalto, A., Leino, M., Majuri, ML., Alenius, H., Wolff, H., Matikainen, S. 2009. Trichotecene mycotoxins activate inflammatory response in human macrophages. *J Immunol.* 182(10):6418-25.
- Karhuvaara, O., Atosuo, J., Suominen, E., Vilén, L., Nuutila, J., Putus T. 2020a. Kosteusvauriomikrobialtistuksen yhteys immuunikompleksien muodostumiseen. Sisäilmastoseminaari 2020.
- Karhuvaara, O., Atosuo, J., Suominen, E., Vilén, L., Nuutila, J., Putus, T. 2020b. Uusi ELISA-menetelmä kosteusvauriomikrobeille altistumisen arvioimiseen. Sisäilmastoseminaari 2020.
- Karvala K, Nordman H, Luukkonen, R., Nykyri E., Lappalainen, S., Hannu T., Toskala, E. 2008. Occupational rhinitis in damp and moldy workplaces. *Am J Rhinol.* 22(5):457-62.
- Karvala, K., Toskala, E., Luukkonen, R., Lappalainen, S., Uitti, J., Nordman, H. 2010. New-onset adult asthma in relation to damp and moldy workplaces. *International Archives of Occupational and Environmental Health.* 83(8):855-865.
- Karvala, K., Toskala, E., Luukkonen, R., Uitti, J., Lappalainen, S., Nordman, H. 2011. Prolonged exposure to damp and moldy workplaces and new-onset asthma. *International Archives of Occupational and Environmental Health.* 84(7): 713-721. doi:10.1007/s00420-011-0677-9
- Karvala, K. Väitöskirja 2012, Asthma in damp indoor environments. Academic dissertation. Finnish Institute of Occupational Health. Finland.
- Karvala, K, Uitti J, Luukkonen R, Nordman H. 2013. Quality of life of patients with asthma related to damp and moldy work environments. *Scand J Work Environ Health.* 39(1):96-105.
- Kettle, A.J., Winterbourn, C.C. 1988. The mechanism of myeloperoxidase-dependent chlorination of monochlorodimedon. *Biochim. Biophys. Acta.* 2, 185-191.
- Kilpi, MK., Atosuo, JT., Lilius, EM. 2009. Bacteriolytic activity of the alternative pathway of complement differs kinetically from the classical pathway. *Dev Comp Immunol.* 3(10):1102-10. doi: 10.1016/j.dci.2009.06.007.
- Kim, KJ., Malik, AB. 2003. Protein transport across the lung epithelial barrier. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 284: L247–L259.

- Kivekäs, J., Estlander, Ilmarinen, J., Kuusela, T., Mäkinen, M., Nygård, CH., Riala, R., Riihimäki, H., Zitting, A. 1984. Rakennussiivoaja- ja ompelijatutkimus. LEL ja Työterveyslaitos. LEL Työeläkekassan julkaisuja 8:210.
- Kohler, JR., Hube, B., Puccia, R., Casadevall, A., Perfect, JR. 2017. Fungi that Infect Humans. *Microbiol Spectr.* 5(3):10. 1128/microbiolspec.FUNK-2016.
- Kokkarinen, J., Tukiainen, H., Terho, EO. 1994. Mortality due to farmer's lung in Finland. *Chest.* 106(2):509-512.
- Kokkarinen, J., Tukiainen, HO., Terho, EO. 1997. Asthma in patients with farmer's lung during a five-year follow-up. *Scand J Work Environ Health.* 23(2):149-51.
- Korppi, M., Laitinen, S., Taskinen, T., Reiman, M., Nevalainen, A., Husman, T. 2003. Mold-specific immunoglobulin G antibodies in a child population. *Pediatr Allergy Immunol.* 14(5):371-7.
- Koskinen, O. Väitöskirja 1999, Moisture, mold and health. Publications of the National Public Health Institute A2/1999, Finland.
- Koskinen, OM., Husman, TM., Meklin, TM., Nevalainen, AI. 1999. The relationship between moisture or mould observations in houses and the state of health of their occupants. *Eur Respir J.* 14(6):1363-7.
- Kotimaa, MH., Oksanen, L., Koskela, P. 1991. Feeding and bedding materials as sources of microbial exposure on dairy farms. *Scand J Work Environ Health.* 17(2):117-22.
- Li, W., Gauthier, JM., Higashikubo, R., Hsiao, HM., Tanaka, S., Vuong, L., Ritter, J., Alice, T., Wong, B., Ramsey, H., Puri, V., Bharat, A., Krupnick, A., Hsieh, C., Baldwin, W., Kelly, K., Palmer, S., Gelman, A., Kreisel, D. 2019 Bronchus-associated lymphoid tissue-resident Foxp3⁺ T lymphocytes prevent antibody-mediated lung rejection. *J Clin Invest.* 2019;129(2):556-68.
- Lignell, U., Meklin, T., Putus, T., Rintala, H., Vepsäläinen, A., Kalliokoski, P. ja Nevalainen A. 2007 Effects of moisture damage and renovation on microbial conditions and pupils' health in two schools--a longitudinal analysis of five years. *Journal of Environmental Monitoring.* Vol. 9, no. 3, s. 225-233. doi:10.1039/b615459j
- Lignell, U. Väitöskirja 2008 Characterization of microorganisms in indoor environments. Dissertation. Publications of the National Public Health Institute Kuopio A3/ 2008. Finland
- Lilius, EM., Nuutila, JT. 2006 Particle-induced myeloperoxidase release in serially diluted whole blood quantifies the number and the phagocytic activity of blood neutrophils and opsonization capacity of plasma. *Luminescence.* 2006 May-Jun;21(3):148-58.
- Lilley, TM., Ruokolainen, L., Meierjohann, A., Kanerva, M., Stauffer, J., Laine, VN., Atosuo, J., Lilius, EM., Nikinmaa, M. 2013 Resistance to oxidative damage but not immunosuppression by organic tin compounds in natural populations of Daubenton's bats (*Myotis daubentonii*). *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol.* 2013 Apr;157(3):298-305. doi: 10.1016/j.cbpc.2013.01.003. Epub 2013 Jan 28. PMID: 23369694
- Louhelainen, K., Pennanen, S., Santonen, T., Lapinlampi, T., Stockmann-Juvala, H., Moisa, J. 2016 Biosidien käyttö korjausrakentamisessa – käyttö ja turvallisuus. SIY raportti 34, Sisäilmayhdistys – Aalto yliopisto, 2016: 143-148.
- Luosujärvi, R., Husman, T., Seuri, M., Pietikäinen, M., Pollari, P., Pelkonen, J., Hujakka, H., Kaipiainen-Seppänen, O., Aho, K. 2003 Joint symptoms and diseases associated with moisture damage in a health care center. *Clin Rheumatol.* 2003; 22:381-385.
- Magombedze, G., Eda, S., Ganusov, V.V. 2014 Competition for antigen between Th1 and Th2 responses determines the timing of the immune response switch during *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis infection in ruminants. *PLoS Comput Biol.* 2014 Jan;10 (1):e1003414. Epub 2014 Jan 9.

Majvik I –suositus: Elg, P., Forss, P., Haahtela, T., Hintikka, E-L., Hirvonen, M-R., Husman, T., Hytönen, M., Juntunen-Backman, K., Kari, O., Keskinen, H., Kiviranta, K., Koivikko, A., Koukila-Kähkölä, P., Laakkonen, A., Mussalo-Rauhamaa, H., Mäkinen-Kiljunen, S., Nevalainen, A., Niinimäki, A., Nordman, H., Palomäki, E., Poukkula, A., Reijula, K., Reiman, M., Ruoppi, P., Ruotsalainen, R., Saarela, K., Terho, EO., Uitti, J., Vesterinen, E., Voutilainen, R. 1998 Kosteusvauriomikrobien aiheuttamien oireiden selvittely. Suomen lääkl 1998:53(18-19):2187-93.

Majvik II –suositus: Kuronen, M. 2007 (suositus ohjaa kosteusvaurioihin liittyvien oireiden selvittelyssä) <http://urn.fi/URN:NBN:fi-fe201210019159>

Markkanen, P., Väitöskirja 2008 Immunotoxic Responses Induced by *Streptomyces californicus* and *Stachybotrys chartum* – The Role of Microbial Interactions, National Public Health Institute 27/2008. Finland

Mayer, S., Engelhart, S., Kolk, A. ja Blome, H. 2008 The significance of mycotoxins in the framework of assessing workplace related risks. Mycotoxin Research. Vol. 24, no. 3, s. 151-164.

McDougal, JS., McDuffie, FC. 1985 Immune complexes in man: detection and clinical significance. Adv Clin Chem. 1985;24:1-60.

Meklin, T., Putus, T., Hyvärinen, A., Haverinen-Shaughnessy, U., Lignell, U. ja Nevalainen, A. 2007 Koulurakennusten kosteus- ja homevauriot, Opas ongelmien selvittämiseen. Kansanterveyslaitoksen julkaisuja C. Kansanterveyslaitos. <http://urn.fi/URN:ISBN:978-951-740-731-1> (25.1.2020)

Murtoniemi, T., Nevalainen, A., Suutari, M., Toivola, M., Komulainen, H., Hirvonen, MR. Inhal.Toxicol. 13 (2001) 233-247.

Murtoniemi, T., Hirvonen, MR., Nevalainen, A., Suutari, M. 2003 A The relation between growth of four microbes on six different plasterboards and biological activity of spores Indoor Air. 13 (2003) 65-73.

Murtoniemi, T., Keinänen, MM., Nevalainen, A., Hirvonen, MR., 2003 B Starch in Plasterboard Sustains *Streptomyces Californicus* Growth and Bioactivity of Spores J.Appl.Microbiol. 94 (2003) 1059-1065

Murtoniemi, T. Väitöskirja 2003 Microbial Growth on Plaster Board and Spore-Induced Cytotoxicity and Inflammatory Responses *In Vitro*, National Public Health Institute Finland, A13/2003, Finland

Myllykangas-Luosujärvi, R., Seuri, M., Husman, T., Korhonen, R., Pakkala, K., Aho, K. 2002 A cluster of inflammatory rheumatic diseases in a moisture damaged office. Clin Exp Rheumatology 2002; 20:833-836.

Nevalainen, A. Väitöskirja 1989 Bacterial aerosols in indoor air. Publications of the National Public Health Institute. A3/1989, Dissertation, Kuopio University Printing Office.

Nevalainen, A., Husman, T., Hirvonen, M-R. 2002 Hankala, haitallinen home – EBM Guidelines, Työterveyslaitos 2002 <https://www.ebm-guidelines.com/xmedia/duo/duo94397.pdf>

Nguyen, TTL., Pentikäinen, T., Rissanen, P., Vahteristo, M., Husman, T., Nevalainen, A. 1998 Health-related costs of moisture and mold in dwellings. Kansanterveyslaitoksen julkaisuja B13/1998, 47 s.

Nikulin, M., Reijula, K., Jarvis, BB., Hintikka, E-L. 1996 Experimental lung mycotoxicosis in mice induced by *Stachybotrys atra*. Int J Exp Pathol 1996; 77 (5):213-8.

Nevalainen, A. Väitöskirja 1989 Bacterial aerosols in indoor air Publications of the National Public Health Institute. A3/1989, Dissertation, Kuopio University Printing Office.

Norbäck, D., Cai, G. 2015 Dampness, indoor mould, fungal DNA and respiratory health - molecular methods in indoor epidemiology. Clinical and experimental allergy. Vol. 45, no. 5, s. 840-843

Nuutila, J., Jalava-Karvinen, P., Hohenthal, U., Laitinen, I., Kotilainen, P., Rajamäki, A., Nikoskelainen, J. & Liljus, E.-M. 2009 Comparison of degranulation of easily mobilizable intracellular granules by human phagocytes in healthy subjects and patients with infectious diseases. Human Immunology 2009 October; 70(10): 813-819

- Nuutila, J., Jalava-Karvinen, P., Hohenthal, U., Kotilainen, P., Pelliniemi, TT., Nikoskelainen, J., Lilius, EM. 2013 Use of complement regulators, CD35, CD46, CD55, and CD59, on leukocytes as markers for diagnosis of viral and bacterial infections. *Hum Immunol.* 2013 May;74(5):522-30. doi: 10.1016/j.humimm.2013.01.011. Epub 2013 Jan 29. PMID: 23376460
- Nuutila, J., Jalava-Karvinen, P., Hohenthal, U., Kotilainen, P., Pelliniemi, TT., Nikoskelainen, J., Lilius, EM. 2014 Bacterial infection (BI)-INDEX: an improved and simplified rapid flow cytometric bacterial infection marker. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 78 (2), 116-26 Feb
- Nuutila, J., Hohenthal, U., Oksi, J., Jalava-Karvinen, P. 2018 A single-tube two-color flow cytometric method for distinguishing between febrile bacterial and viral infections. *J Microbiol Methods.* 2018 Sep;152:61-68. doi: 10.1016/j.mimet.2018.07.015. Epub 2018 Jul 29. PMID:30063957
- Olsson, AR., Skogh, T. 2000 Occupational determinants for rheumatoid arthritis. *Scand J Work Environ Health* 2000;26:243-248.
- Olsson, AR., Skogh, T., Axelson, O., Wingren, G. 2004 Occupations and exposures in the work environment as determinants for rheumatoid arthritis. *Occup Environ Med* 2004; 61: 223-8.
- Osborne, N., Thornton, C. ja Sharpe, R. 2015 Indoor Fungal Exposure and Allergic Respiratory Disease. *Current Allergy and Asthma Reports.* Vol. 15, no. 12, s. 71.
- Othman, N.L., Jaafar, M., Harun, W.M.W., Ibrahim, F. 2015 A Case Study on Moisture Problems and Building Defects. *Procedia - Social and Behavioral Sciences.* Vol. 170, s. 27-36.
- Owen, J.A., Punt, J., Strandford, S.A., Jones, P.P., 2019 *Cuby Immunology*. 8. edition. Macmillan, Basingstoke, England
- Oya, E., Becher, R., Ekeren, L., Afanou, A. K. J., Ovrevik, J., & Holme, J. A. 2019 Pro-inflammatory responses in human bronchial epithelial cells induced by spores and hyphal fragments of common damp indoor molds. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(6), 10.3390/ijerph16061085. doi:E1085 [pii]
- Park, JH., Kreiss, K., Cox-Ganser, JM. 2012 Rhinosinusitis and mold as risk factors for asthma symptoms in occupants of a water-damaged building. *Indoor Air.* 2012;22(5):396-404.
- Patovirta, R. L., Meklin, T., Nevalainen, A. ja Husman, T. 2004 Effects of mould remediation on school teachers' health. *International Journal of Environmental Health Research.* Vol. 14, no. 6, s. 415-427. doi:10.1080/09603120400012876
- Patovirta, RL., Husman, T., Haverinen, U., Vahteristo, M., Uitti, JA., Tukiainen, H., Nevalainen, A.. 2004. The remediation of mold damaged school--a three-year follow-up study on teachers' health. *Cent Eur J Public Health.* 2004 Mar;12(1):36-42.
- Patovirta, RL. 2005 Teachers' health in moisture-damaged schools – a follow-up study.[väitöskirja]. University of Kuopio; 2005. Finland
- Pekkanen, J., Hyvärinen, A., Haverinen-Shaughnessy, U., Korppi, M., Putus, T., Nevalainen, A. 2007 Moisture damage and childhood asthma: a population-based incident case-control study *European Respiratory Journal* 2007 29: 509-515
- Pellegrino, R., Viegi, G., Brusasco, V., Crapo, R.O., Burgo, F., Casaburi, R., Coates, A., van der Grinten, C.P., Gustafsson, P., Hankinson, J., Jensen, R., Johnson, D.C., MacIntyre, N., McKay, R., Miller, M.R., Navajas, D., Pedersen, O.F. and Wanger, J. 2005 Interpretative strategies for lung function tests. *European Respiratory Journal*, 26, 948-968.
- Pirhonen, I., Nevalainen, A., Husman, T., Pekkanen, J. 1996 Home dampness, mould and their influence on respiratory infections and symptoms in adults in Finland. *Eur Respir J* 1996; 9: 2618-22. ym. 1996

Purokivi, M. Väitöskirja 2002 Assessment of airway inflammation in association with exposure to microbes present in moisture-damaged buildings. Väitöskirja. Kuopion yliopiston julkaisuja D, Lääketiede 276, 2002. Finland

Putus, T. 2015 Sisäilmastoseminaari, Ilmanpuhdistimien käytön hyödyt sisäilma-kohteissa., Sisäilmayhdistyksen raportti 33/2015, Sisäilmayhdistys ry ja Aalto-yliopisto, s. 223-226.

Putus, T. ym. 2016. Terveyshaitat kosteusvaurioituneilla paloasemilla, SIY raportti 34 s. 153-158

Putus, T. ym. 2017 A. Paloasemien sisäilma ja sarastavuus – tuloksia valtakunnallisesta kyselystä, SIY raportti 35 s. 91-96

Putus, T., ja Vilén, L. 2017 B Sisäilman laatu, oireet ja sairaudet - Oirekysely Tehy ry:n jäsenille sisäilmamikrobien terveyshaitoista sairaaloissa, terveyskeskuksissa ja muissa hoitolaitoksissa. Tehyn Julkaisusarja A Tutkimusraportteja 1/17. Grano Oy, Vantaa.

Putus, T., Lämsikallio, R., Ilves, V. 2017 C. Koulutus-, kasvatus- ja tutkimusalan Sisäilmatutkimus 2017. Turun Yliopisto ja Opetusalan Ammattijärjestö.
https://www.oaj.fi/globalassets/julkaisut/2017/sisailmatutkimus_3010_final_sivut.pdf (27.11.2019)

Putus, T. 2017 D. Home ja terveys - Kosteusvauriohomeiden, hiivojen ja sädesienten esiintyminen sekä terveyshaitat. Ympäristö- ja terveysalan kustannus Oy, 3. pv. 2017, 152 s.

Putus, T., Päivinen, M., Vilén, L., Suominen, E., Atosuo, J. 2020 SataKunta-hankkeen tuloksia – Astma ja astmaoireet yleistyvät lapsilla sisäilmaongelmaisissa päiväkodeissa ja kouluissa. Sisäilmastoseminaari 2020

Putus, T., Vilén, L., Suominen, E., Päivinen, M., Atosuo, J., 2020 SataKunta-hankkeen päiväkodit - Koettu sisäilman laatu, oireet, sairaudet ja stressi päiväkotien henkilökunnalla Turun yliopisto Sisäilmastoseminaari 2020

Päivinen, M., Vilén, L., Putus, T. 2020 Terveisiin tiloihin siirtymisen vaikutus työntekijöiden keuhkofunktioihin, Sisäilmastoseminaari 2020

Rautalahti M., Väitöskirja 1986 Karjanhoitotyön vaikutus viljelijöiden terveyteen. Spirometrinen, serologinen ja allergologinen tutkimus karjan sisäruokintakauden vaikutuksista. Työterveyslaitoksen tutkimuksia 4(1986): lisänumero 3, Finland

Rautiala, S., väitöskirja 2004 Microbial Exposure in Remedation Work, Kuopio University Publications, Natural and Environmental Sciences 171, Kuopio, Finland ISBN 951-781-309-0. Finland

Reijula, K., Ahonen, G., Alenius, H., Holopainen, R., Lappalainen, S., Palomäki, E. ja Reiman, M. 2012 Rakennusten kosteus ja homeongelmat. Eduskunnan tarkastusvaliokunnan julkaisu 1/2012.

Reiman, M., Kujanpää, L. Kujanpää, R. 2004 Rakennusmateriaalin ominaisuuksien vaikutus mikrobistoon. SIY Raportti 22, Sisäilmayhdistys – Teknillinen korkeakoulu 2004.

RIL 250-2011 2011 Kosteudenhallinta ja homevaurioiden estäminen. Suomen Rakennusinsinöörien Liitto RIL ry. Saarijärven Offset Oy.

Rimpelä, M., Rigoff, AM., Kuusela, J., Peltonen, H. 2007 Hyvinvoinnin ja terveyden edistäminen peruskouluissa – perusraportti kyselystä 7.-9. vuosiluokkien kouluille. Stakes – Opetushallitus Vammalan kirjapaino Oy Vammala 2007.

Rimpelä, M., Kuusela, J., Rigoff, AM., Saaristo, V., Wiss, K. 2008 Hyvinvoinnin ja terveyden edistäminen peruskouluissa 2 – perusraportti kyselystä 1.-6. vuosiluokkien kouluille. Opetushallitus ja Stakes Vammalan kirjapaino Oy Vammala 2008.

Rimpelä, M., Jarvala, T., Kalkkinen, P., Peltonen, H., Rigoff, AM. 2008 Hyvinvoinnin ja terveyden edistäminen lukioissa – perusraportti lukiokyselystä vuonna 2008. Opetushallitus ja THL Edita Prima Oy Helsinki 2009.

Rintala, H. väitöskirja 2003 *Streptomyces* in Indoor Environments – PCR Based Detection and Diversity. National Public Health Institute A2/2003, Finland

Roponen, M., Meklin, T., Rintala H., Hyvärinen, A., Hirvonen, MR. 2013 Effect of moisture-damage intervention on the immunotoxic potential and microbial content of airborne particles and on occupants' upper airway inflammatory responses. *Indoor Air* 2013; 23(4):295-302.

Roponen, M. Väitöskirja 2002 Nasal Lavage in the Evaluation of Indoor Air-Related Upper Airway Inflammation, National Public Health Institute, A29/2002, Finland

Rosenblum Lichtenstein, JH., Hsu, YH., Gavin, IM., Donaghey, TC., Molina, RM., Thompson, KJ., Chi, CL., Gillis, BS., Brain, JD. 2015 Environmental mold and mycotoxin exposures elicit specific cytokine and chemokine responses. *PLoS One*. 2015 May 26;10(5):e0126926. doi: 10.1371/journal.pone.0126926. eCollection 2015.

Rudblad, S. Väitöskirja 2004 Nasal Mucosal Reactivity After Long-Time Exposure to Building Dampness. Department of Otorhinolaryngology and the Department of Occupational and Environmental Medicine, Örebro University Hospital and Department of Otorhinolaryngology, Karolinska University Hospital, Huddinge, Sweden ISBN 91-974455-5-X

Ruotsalainen, R., Jaakkola, N., Jaakkola, JJ. 1995 Dampness and molds in day-care centers as an occupational health problem. *Int Arch Occup Environ Health* 66: 369-74.

Ruotsalainen, R. Väitöskirja 1995 Ventilation, indoor air quality, and human health and comfort in dwellings and day-care centers. Helsinki University of Technology, Faculty of Mechanical Engineering, Laboratory of Heating, Ventilating and Air Conditioning. Report A1. Finland

Ruoppi, P. 2009 Mold problem in the work environment--an otorhinolaryngologist's view. *Duodecim*. 2009;125(9):983-9.

Rylander, R., Reeslev, M., Hulander, T. 2010 Airborne enzyme measurements to detect indoor mould exposure. *J Environ Monit*. 2010; 12(11):2161-4.

Salonen, H., Pasanen, AL., Lappalainen, S., Riuttala, H., Tuomi, T., Pasanen, P., Bäck, B., Reijula, K.. 2009 Volatile organic compounds and formaldehyde as explaining factors for sensory irritation in office environments. *J Occup Environ Hyg* 2009; 6(4): 239-47.

Samson, RA., Flannigan, B., Flannigan, ME., Verhoeff, AP., Adan, OCC., Hoekstra, ES. 1994 Health implications of fungi in indoor environments. Recommendations. In: *Air Quality Monographs* (Eds. RA Samson, B Flannigan, ME Flannigan, AP Verhoeff, OCC Adan, ES Hoekstra) Vol 2, Elsevier Science BV, Amsterdam 1994, s. 529-538.

Sandrini, A., Taylor DR, Thomas PS, Yates DH. 2009 Fractional exhaled nitric oxide in asthma: An update. *Respirology*, 15, 57-70.

Sauni, R., Uitti, J., Jauhiainen, M., Kreiss, K., Sigsgaard, T. ja Verbeek, J. H. 2013 Remediating buildings damaged by dampness and mould for preventing or reducing respiratory tract symptoms, infections and asthma (review). *Evidence-Based Child Health: A Cochrane Review Journal*. Vol. 8, no. 3, s. 944-1000.

Savilahti, R., Uitti, J., Laippala, P., Husman, T. ja Roto, P. 2000 Respiratory morbidity among children following renovation of a water-damaged school. *Archives of Environmental Health: An International Journal*. Vol. 55, no. 6, s. 405–410.

Savilahti, R. Väitöskirja 2009 Water damage in an elementary school, respiratory symptoms and atopy among children. One year follow-up after renovation. *Acta Universitatis Tamperensis* 1394; Tampere University Press, Tampere 2009. Finland

Schlörke, D., Atosuo, J., Flemmig, J., Lilius, EM., Arnhold, J.. 2016 Impact of cyanogen iodide in killing of *Escherichia coli* by the lactoperoxidase-hydrogen peroxide-(pseudo)halide system. *Free Radic Res*. 2016 Dec;50(12):1287-1295. Epub 2016 Oct 12. PMID:27629563

Selinheimo, S., Vuokko, A., Hublin, C., Järnefelt, H., Karvala, K., Sainio, M., Suojalehto, H., Paunio, T. 2020 Psychosocial treatments for employees with non-specific and persistent physical symptoms associated with indoor air: A randomised controlled trial with a one-year follow-up. *J Psychosom Res.* 2020 Feb 12;131:109962. doi: 10.1016/j.jpsychores.2020.109962. [Epub ahead of print] PMID: 32078837

Seppänen, O., Palonen, J., 1998 Sisäilman Kansantaloudelliset Vaikutukset 1998, Sisäilmayhdistys raportti 10, ISBN 951-5236-00-5

Singh, J., Yu, C.W.F. ja Jeong, T.K. 2010 Building Pathology, Investigation of Sick Buildings —Toxic Moulds. *Indoor and Built Environment.* Vol. 19, no. 1, s. 40-47.

Sosiaali- ja terveysministeriön Asumisterveysohjeessa ja -oppaassa (nyk. Valviran soveltamisohje asumisterveysasetuksesta)

Soutar, CA. 1976 Distribution of plasma cells and other cells containing immunoglobulin in the respiratory tract of normal man and class of immunoglobulin contained therein. *Thorax.* 1976 ;31(2):158-66.

Sundman-Diebert, C., Reijula, K. 2002 Sisäilmaongelmien tutkiminen työpaikoilla kyselyn avulla. *Suomen lääkirilehti* 2002; 57 (11): 1235-1240.

Susitaival, P., Husman T. (Toim.) 1996 Tuohilampi-lomakkeisto hengitysteiden, ihon ja silmien allergiasairauksien väestötutkimuksia varten. Tuohilampi-ryhmä s: 104

Taskinen, T. . Väitöskirja 2001 Moisture and mould problems in school buildings. A clinical study on the health effects in schoolchildren. Publications of the National Public Health Institute A9. Finland

Thacher, JD., Gruzdeva, O., Pershagen, G., Melen, E., Lorentzen, JC., Kull, I., Bergström, A. 2017 Mold and dampness exposure and allergic outcomes from birth to adolescence: data from the BAMSE cohort. *Allergy.* 2017;72(6):967-74.

Toivola, M., Väitöskirja 2004 Personal Exposure to Microbial Aerosols, National Public Health Institute A13/2004. Finland

Tonshin, AA., Teplova, VV., Andersson, MA., Salkinoja-Salonen, MS. 2010 The *Fusarium* mycotoxins enniatins and beauvericin cause mitochondrial dysfunction by affecting the mitochondrial volume regulation, oxidative phosphorylation and ion homeostasis. *Toxicology* 2010; 276(1): 49-57.

TSR tutkimushanke 100065: Työperäinen altistuminen ja herkistyminen varastopunkeille (Sirpa Pennanen ym)

TSR tutkimushanke 100349: Kosteusvauriorakennusten henkilökunnan niveloireet ja -sairaudet - kosteusvaurion ja autoimmuunitautien yhteys (Tuula Putus ym)

TSR tutkimushanke 113065: Kosteus- ja homevauriokohteiden mikrobi- ja hajuhaittojen neutralointi ja terveyshaittojen arviointi pölynäytteistä (Janne Atosuo)

TSR tutkimushanke 114168: Basofiiliaktivaatiotesti (BAT) ja IgD-vasta-aine kosteusvaurioaltistumisen osoittamisessa (Tuula Putus ym)

TSR tutkimushanke 114151: Sisäilmaongelmien terveyshaittojen arviointi pölynäytteiden toksisuuden perusteella (Janne Atosuo)

TSR Post doc -stipendi 116050: Sisäilmavauriokohteiden nopea havainnointi, kokonaistoksisuusmittausten korrelaatio työntekijöiden terveysvasteiden ja mikrobihavaintojen kanssa (Janne Atosuo)

Uitti, J., Taskinen, M., 2011 Työperäiset Sairaudet, Työterveyslaitos ISBN 9789518026030

Työturvallisuuslaki- ja asetus, terveydensuojelulaki ja -asetus sekä peruskoululaki www.finlex.fi,

Täubel, M., Sulyok, M., Vishwanath, V., Bloom, E., Turunen, M., Järvi, K., Kauhanen, E., Krska, R., Hyvärinen, A., Larsson, L., Nevalainen, A. 2011 Co-occurrence of toxic bacterial and fungal secondary metabolites in

moisture-damaged indoor environments. *Indoor Air*. 2011 Oct;21(5):368-75. doi: 10.1111/j.1600-0668.2011.00721.x. Epub 2011 May 18.

Vidarsson, G., Dekkers, G., Rispens, T. 2014 IgG subclasses and allotypes: from structure to effector functions. *Front Immunol*. 2014;5:520.

Viitanen H. 1994 Factors affecting the development of biodeterioration in wooden constructions. *Materials and Structures* 27: 483-493, 1994.

Vilén, L., Atosuo, J., Lilius, EM. 2017 The response of phagocytes to indoor air toxicity. *Frontiers in Immunology*, "Dampness and Mold Hypersensitivity Syndrome (DMHS)" *Front. Immunol.*, 28 July 2017

Vilén L., Päivinen M., Putus T. 202. Tapaustutkimus: Väistötilaan siirtymisen vaikutukset sisäilmaongelmista kärsineen lukion henkilökunnan terveyteen, Sisäilmastoseminaari 2020

Vuokko, A., Selinheimo, S., Sainio, M., Suojalehto, H., Järnefelt, H., Virtanen, M., Kallio, E., Hublin, C., Kaarna, K. 2015 Decreased work ability associated to indoor air problems--An intervention (RCT) to promote health behavior. *Neurotoxicology*. 2015;49:59-67.

Vuokko, A., Karvala, K., Suojalehto, H., Lindholm, H., Selinheimo, S., Heinonen-Guzejev, M., Leppämäki, S., Cederström, S., Hublin, C., Tuisku, K., Sainio, M.. 2019 Clinical Characteristics of Disability in Patients with Indoor Air-Related Environmental Intolerance. *Saf Health Work*. 2019 Sep;10(3):362-369. doi: 10.1016/j.shaw.2019.06.003. Epub 2019 Jun 14. PMID:31497334

Väyrynen, P., Saaristo, V., Wiss, K., Rigoff (toim.) 2008 Hyvinvoinnin ja terveyden edistäminen ammatillisissa oppilaitoksissa – perusraportti kyselystä vuonna 2008, TH ja Opetushallitus 2009, 182 s.

Wang J, Väitöskirja 2018 Asthma and Rhinitis among Adults in Sweden and China, Risk Factors in the home Environment. Department of Medicine, Occupational and Environmental Medicine, Akademiska Sjukhuset, Uppsala University, 1467, ISBN: 978-91-513-0347-5 Sweden

WHO Housing and Health Guidelines. Geneva: World Health Organization. ; 2018.

Wolff H, Mussalo-Rauhamaa H, Raitio H, Elg P, Orpana A, Piilonen A, Haahtela T. 2009 Patients referred to an indoor air health clinic: exposure to water-damaged buildings causes an increase of lymphocytes in bronchoalveolar lavage and a decrease of CD19 leucocytes in peripheral blood. *Scand J Clin Lab Invest* 2009; 69(5):537-44.

Zemans, RL. 2017 What drives neutrophils to the alveoli in ARDS? *Thorax*. 2017 Jan;72(1):1-3.

Zhou, J., You, Y., Bai, Z., Hu, Y., Zhang, J. ja Zhang, N. 2011 Health risk assessment of personal inhalation exposure to volatile organic compounds in Tianjin, China. *Science of the Total Environment*. Vol. 409, no. 3, s.452–459. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2010.10.022>